

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

(11) N° de publication :

2 777 664

(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national :

98 04654

(51) Int Cl⁶ : G 02 B 21/18

(12)

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

(22) Date de dépôt : 15.04.98.

(30) Priorité :

(71) Demandeur(s) : LAUER VINCENT — FR.

(72) Inventeur(s) : LAUER VINCENT.

(43) Date de mise à la disposition du public de la
demande : 22.10.99 Bulletin 99/42.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été
établi à la date de publication de la demande.*

(60) Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

(73) Titulaire(s) :

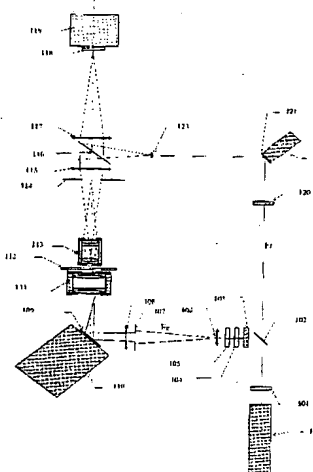
(74) Mandataire(s) :

(54) MICROSCOPE GENERANT UNE REPRESENTATION TRIDIMENSIONNELLE D'UN OBJET ET IMAGES
GENEREES PAR CE MICROSCOPE.

(57) L'invention concerne un microscope qui calcule une
représentation tridimensionnelle complexe de l'objet à partir
d'une série d'enregistrements de l'onde lumineuse issue de
l'objet et de l'onde éclairant l'objet, l'onde éclairant l'objet
variant entre chaque enregistrement.

Le microscope comprend une partie optique permettant
la génération de figures d'interférences entre une onde lu-
mineuse de référence et une onde lumineuse diffractée par
l'objet observé, des capteurs permettant de numériser ces
figures d'interférences, des actionneurs permettant d'agir
sur le système optique, et un ordinateur recevant les figures
d'interférence numérisées, contrôlant les actionneurs, et
doté de mémoire et de moyens de calcul lui permettant de
calculer des images tridimensionnelles à partir des figures
d'interférences. La partie optique permet l'enregistrement
sur une surface de capteurs (118) de l'onde issue de l'objet
(112) par mesure des figures d'interférences produites par
le faisceau de référence Fr et l'onde issue de l'objet. Le mi-
roir (109) permet de faire varier la direction du faisceau
d'éclairage parallèle de l'objet.

Application: microscopie en biologie et en métrologie.



FR 2 777 664 - A1



Microscope générant une représentation tridimensionnelle
d'un objet et images générées par ce microscope.

Domaine technique:

- 5 La présente invention concerne un microscope optique générant une représentation en trois dimensions de l'objet observé.

Technique antérieure:

- 10 Les microscopes courants forment par un procédé optique une image bidimensionnelle correspondant à une coupe agrandie de l'objet observé. Cette image peut le cas échéant être enregistrée par une caméra vidéo afin de pouvoir être restituée ultérieurement.

- Il est possible de générer une image tridimensionnelle en utilisant un de ces microscopes et en faisant varier le réglage de focalisation. A chaque réglage correspond un plan de coupe différent, et une image en trois dimensions peut être reconstituée à partir de ces plans de coupe. Certains microscopes munis d'un dispositif de focalisation motorisé et d'un logiciel approprié effectuent cette opération
- 15 automatiquement. De tels microscopes sont décrits par exemple dans l'article « 4-D imaging software observe living cells », par Charles Thomas et John White, paru dans l'exemplaire de décembre 1996 du journal « Scientific Computing World » publié par IOP publishing Ltd à Bristol, Grande-Bretagne.

- Il existe également des microscopes confocaux, dans lesquels l'éclairage est focalisé sur un point et l'image tridimensionnelle est générée en balayant tous les points de l'objet. De tels microscopes
- 20 sont décrits par exemple dans l'article « Under a Microscope: Confocal Microscopy Casts New Light on the Dynamics of Life », par W. Conard Holton, paru en février 1995 dans la revue « Photonics Spectra » publiée par Optical Publications Company à Pittsfield, Massachusetts, Etats-Unis.

- Par ailleurs, il existe des microscopes interférométriques utilisant deux ondes distinctes dont la superposition fournit une image. Sur ces appareils, l'image est toujours observée directement dans un plan qui est l'image géométrique de l'objet traversé par au moins une des deux ondes. Ces dispositifs produisent des images bidimensionnelles semblables à celles produites par un microscope ordinaire, à ceci près que les variations d'éclairement de l'image ne sont pas caractéristiques de l'absorptivité de l'échantillon mais des interférences entre les deux ondes dans un plan image de l'objet. Ces dispositifs
- 30 ne permettent pas d'obtenir d'images en trois dimensions. Ils sont décrits par exemple au chapitre III de l'ouvrage « Progress in Microscopy » par M. Françon, paru en 1961 chez Pergamon Press, Oxford, Grande-Bretagne.

- Le seul moyen permettant l'enregistrement rapide d'une image microscopique tridimensionnelle est la microscopie holographique. Mais cette méthode ne permet pas en général
- 35 l'enregistrement direct de l'information sous forme numérique: l'hologramme doit être enregistré sur un papier spécial puis l'image doit être reconstituée optiquement et observée par un microscope classique. En effet le pas d'analyse pour un enregistrement holographique doit être inférieur à la

longueur d'onde, ce qui est hors de portée des systèmes de conversion optique-numérique actuels. Cette méthode est décrite par exemple dans l'article intitulé « Holographic Microscopy », par M.Pluta, paru en 1987 dans le volume 10 de la série « Advances in Optical and Electron Microscopy », chez Academic Press, Londres.

5 Des auteurs ont réalisé des microscopes dans lesquels une configuration adaptée de l'onde de référence et de l'onde diffusée par l'échantillon permet un enregistrement numérique, et dans lesquels la reconstruction holographique optique est simulée numériquement. Des systèmes de ce type sont décrits dans les articles suivants:

-Karpov V B: « study of Biological Samples with a Laser Fourier Holographic Microscope », Laser
10 Physics vol.4 no3, mai 1994-juin 1994, pages 618-623
-Bianco B et Al: « Computer simulation of 3D Imaging in Holography : A preliminary study for automated Holographic Microscopy », proceedings of ISMIII '82: first IEEE computer society International Symposium on Medical Images and Icons. 24-27 juillet 1984, Arlington,US, pages 232-235.

15 Un microscope existe dans lequel la valeur complexe exacte de l'onde lumineuse reçue sur une surface donnée est enregistrée, dans lequel la valeur de l'onde lumineuse dans l'échantillon est calculée à partir de cet enregistrement, et dans lequel plusieurs éclairages différents peuvent être utilisés successivement pour supprimer l'effet de speckle et obtenir par moyennage une représentation tridimensionnelle de l'objet observé. Cependant, ce microscope ne peut obtenir une image tenant
20 compte de la phase de l'onde que lorsque une seule onde d'éclairage plane est utilisée. La phase de l'onde lumineuse dans l'objet, calculée par transformée de Fourier inverse, n'est alors pas liée directement à l'indice local de l'échantillon mais plutôt à son intégrale le long du trajet de l'onde d'éclairage. De plus, la définition dans la direction du faisceau est alors mauvaise. Lorsque ce microscope utilise plusieurs éclairages distincts, il les combine par moyennage en intensité, ce qui
25 supprime l'information de phase. L'image tridimensionnelle obtenue est alors en nombres réels et ne permet de caractériser que l'absorptivité de l'échantillon. Ce microscope est décrit dans le brevet PCT/FR97/01695

Exposé de l'invention:

30 Une onde étant connue par sa valeur complexe en chaque point d'une surface de réception, il est possible de générer sa représentation complexe dans une zone observée par un calcul simulant le retour inverse de la lumière. La représentation ainsi obtenue est une fonction complexe des coordonnées spatiales. Une représentation fréquentielle de l'onde peut être obtenue par transformation de Fourier de cette représentation spatiale. En représentation fréquentielle, les coordonnées d'un point représentent la
35 fréquence spatiale (qui est donc un vecteur). Une onde plane a une représentation fréquentielle réduite à un seul point dont le vecteur fréquence associé a pour norme l'inverse de la longueur d'onde et pour direction la direction de propagation de l'onde. La représentation fréquentielle d'une onde

monochromatique ne comporte que des fréquences de norme constante égale à l'inverse de la longueur d'onde et elle est donc bidimensionnelle, c'est-à-dire réduite à une portion de sphère centrée sur la fréquence nulle et dont le rayon est l'inverse de la longueur d'onde. L'onde issue de l'objet ou l'onde d'éclairage peuvent être caractérisées par leurs représentations fréquentielles ou spatiales. Selon le même principe, toute fonction complexe de la position définie dans la zone observée peut être considérée comme une représentation spatiale et peut également être convertie en représentation fréquentielle. On utilisera le terme 'représentation' pour désigner une telle fonction indépendamment du domaine spatial ou fréquentiel dans lequel elle peut être exprimée.

Le microscope décrit dans le document PCT/FR97/01695, dans le mode où il utilise une série d'ondes d'éclairage distinctes, génère une représentation tridimensionnelle de l'objet observé qui ne prend en compte que l'absorptivité locale de l'échantillon. L'objectif de la présente invention est de permettre la génération d'une représentation tridimensionnelle prenant également en compte des variations de l'indice de réfraction. Pour cela, le microscope doit prendre en compte les différences de phase générées pour chaque éclairage par la présence de l'échantillon. Afin de pouvoir prendre en compte ces différences de phase, l'algorithme de calcul de la représentation tridimensionnelle doit disposer d'une représentation de chaque onde issue de l'objet et d'une représentation de chaque onde d'éclairage correspondante, qui constitue une référence de phase. L'objet de l'invention est un microscope qui génère par calcul numérique une représentation tridimensionnelle de l'objet observé à partir de plusieurs enregistrements de l'onde diffractée par l'objet et reçue sur une surface de réception, ces enregistrements différant entre eux par l'onde d'éclairage utilisée. Il diffère du microscope décrit dans le document PCT/FR97/01695 en ce qu'il comporte des moyens pour déterminer une représentation de chaque onde d'éclairage dans l'objet observé.

Dans la mesure où on étudie les propriétés locales de l'échantillon observé, on s'intéresse essentiellement au rapport de l'onde diffractée à l'onde d'éclairage, dont la phase correspond à une différence de phase induite par la présence de l'objet et dont l'intensité est liée à l'intensité absorbée par ledit objet (en l'absence d'objet, ce rapport est constant et égal à 1). Selon une version avantageuse de l'invention, l'algorithme de calcul de la représentation tridimensionnelle de l'objet comporte une étape au cours de laquelle il calcule une représentation normalisée de chaque onde issue de l'objet par rapport à l'onde d'éclairage. Une représentation normalisée est telle qu'en représentation spatiale sa valeur en tout point soit le rapport de l'onde issue de l'objet à l'onde d'éclairage correspondante. Elle n'est pas en elle-même la représentation d'une onde et sa représentation fréquentielle n'est pas toujours bidimensionnelle.

Selon une version avantageuse de l'invention, une valeur complexe caractéristique est calculée en chaque point de l'objet en moyennant les valeurs des représentations normalisées obtenues en ce point pour chaque éclairage. Ce moyennage peut être effectué, par exemple, sur l'ensemble des éclairages produisant au point considéré une intensité supérieure à une valeur minimale choisie pour limiter le bruit. L'ensemble des valeurs ainsi obtenues constitue la représentation tridimensionnelle de

l'objet. Cette représentation tridimensionnelle prend en compte les différences de phase induites par la présence de l'objet et donc les variations d'indice dans l'échantillon. De plus, lorsqu'un nombre suffisant d'éclairage distincts, choisis de manière appropriée, est utilisé, la valeur de cette représentation tridimensionnelle en un point tend vers une limite dont la partie réelle dépend essentiellement de l'absorptivité locale de l'échantillon et dont la partie imaginaire dépend essentiellement de l'indice local de l'échantillon.

Selon une version avantageuse de l'invention, les ondes d'éclairage sont des ondes planes différant entre elles par leur direction. L'utilisation d'ondes d'éclairage planes simplifie l'ensemble du système.

10 Dans le cas des ondes d'éclairage planes, et lorsque l'échantillon utilisé est faiblement diffractant, la représentation fréquentielle de l'onde issue de l'objet comprend l'onde d'éclairage atténuée, dont la représentation est ponctuelle (c'est une fréquence pure) et dont l'intensité est élevée, et l'onde diffractée, dont la représentation est répartie sur un large domaine de fréquences. En première approximation, la représentation fréquentielle de l'onde d'éclairage est donc limitée à un point dont les

15 coordonnées sont celles du point d'intensité maximale dans la représentation de l'onde issue de l'objet, la valeur de la représentation fréquentielle de l'onde d'éclairage en ce point étant égale à la valeur de la représentation fréquentielle de l'onde issue de l'objet en ce point. Selon une version avantageuse de l'invention, la représentation fréquentielle de l'onde d'éclairage est donc obtenue en extrayant le point d'intensité maximale de la représentation fréquentielle de l'onde issue de l'objet.

20 Dans le cas des ondes d'éclairage planes, et selon une version avantageuse de l'invention, la normalisation est effectuée dans le domaine fréquentiel en divisant la représentation fréquentielle de l'onde issue de l'objet par la valeur de l'onde d'éclairage sur la fréquence unique de cette onde, puis en translatant la représentation fréquentielle de l'onde issue de l'objet de manière à ramener à zéro la fréquence unique de l'onde d'éclairage. Dans ce cas, la représentation normalisée de l'onde issue de

25 l'objet reste bidimensionnelle, mais n'est plus centrée sur la fréquence nulle.

Dans le cas des ondes d'éclairage planes, l'onde d'éclairage est d'intensité constante dans l'objet. Suivant le principe indiqué plus haut, le moyennage est donc effectué en chaque point sur la totalité des ondes d'éclairage. Cette opération de moyennage est linéaire. Elle peut donc être effectuée indifféremment dans le domaine fréquentiel ou dans le domaine spatial. Selon une version avantageuse

30 de l'invention, ce moyennage est effectué dans le domaine fréquentiel, où la représentation normalisée obtenue à partir d'un éclairage donné est bidimensionnelle et non tridimensionnelle, ce qui limite le volume de calculs à effectuer. Une représentation fréquentielle tridimensionnelle de l'objet est alors obtenue, et la représentation spatiale tridimensionnelle peut en être déduite par transformation de Fourier tridimensionnelle inverse.

35 La présence de l'objet se traduit, du fait des variations d'indice et d'absorptivité, par la génération locale d'une onde diffusée qui se superpose à l'onde d'éclairage. Le rapport de cette onde diffusée localement à l'onde d'éclairage est indépendant de l'éclairage et caractérise le point considéré.

La partie réelle de ce rapport caractérise l'absorptivité de l'échantillon et sa partie imaginaire caractérise son indice. Il est particulièrement intéressant de générer ce rapport comme représentation tridimensionnelle de l'objet. Or la représentation générée par le moyennage précédemment indiqué ne correspond pas à ce rapport. Par exemple, l'image générée par un objet absorbant sur un fond transparent sera en 'noir sur blanc' (onde issue de l'objet absorbant faible, onde intense issue du fond transparent fond), alors que le rapport recherché sera en blanc sur noir (onde diffusée nulle sur les parties transparentes et élevée sur les parties absorbantes). Pour obtenir le rapport recherché, il est nécessaire de remplacer le moyennage sur l'ensemble des représentations fréquentielles normalisées des ondes issues de l'objet par un moyennage limité en chaque point à celles de ces représentations qui atteignent le point considéré, c'est-à-dire qui ont une valeur non nulle en ce point. Une valeur nulle est affectée aux points non atteints, ce qui est relativement arbitraire mais minimise les erreurs qui en découlent. Cette limitation du moyennage constitue une version avantageuse de l'invention.

Les variations de direction de l'onde de référence, caractérisée par son vecteur fréquence, peuvent se faire de diverses manières. Le maximum de précision est obtenu lorsque toutes les directions possibles sont utilisées. Cependant, il suffit de faire varier le vecteur fréquence de sorte que son extrémité décrive un ensemble à une dimension pour obtenir une représentation fréquentielle tridimensionnelle. Selon une version avantageuse de l'invention, son extrémité décrit un cercle centré sur l'axe optique du microscope et de rayon suffisant.

Diverses méthodes permettent de faire varier la direction de l'onde plane d'éclairage. La solution la plus immédiate est d'utiliser un jeu de miroirs plans mobiles permettant de rediriger un faisceau laser parallèle d'éclairage vers l'échantillon sous les angles voulus. Mais cette solution nécessite l'utilisation d'un système mécanique complexe articulant les miroirs entre eux. Une solution plus simple est d'utiliser un seul miroir renvoyant le faisceau vers un condenseur sous un angle variable. Le condenseur, formant dans le plan observé de l'objet une image dudit miroir, redirige les ondes d'éclairage vers l'objet, sous des angles élevés pouvant aller jusqu'à son ouverture maximale. Cependant, le condenseur ne transforme pas un faisceau parallèle en un faisceau parallèle. Afin que le faisceau soit parallèle en sortie du condenseur, il doit être focalisé en entrée sur un point de la surface focale objet dudit condenseur. Selon une version avantageuse de l'invention, le système permettant la génération des ondes d'éclairage parallèles comporte un miroir mobile renvoyant le faisceau d'éclairage vers un condenseur qui le redirige vers la zone observée de l'objet, et des éléments optiques (lentilles) modifiant le faisceau d'éclairage avant son entrée dans le condenseur, de sorte que son point de focalisation soit sur la surface focale objet du condenseur.

L'ouverture du faisceau en entrée du condenseur détermine alors la largeur du faisceau parallèle sortant du condenseur pour illuminer l'échantillon. Cette largeur doit correspondre à la zone observée de l'échantillon. Trop élevée, elle génère du bruit supplémentaire dû aux interactions de l'onde d'éclairage avec les points de l'objet se situant hors de la zone d'observation. Insuffisamment élevée, elle ne permet pas d'éclairer convenablement la zone observée. Selon une version avantageuse de

l'invention, un diaphragme permettant de régler l'ouverture dudit faisceau d'éclairage est inséré dans le système optique faisant converger l'onde d'éclairage vers un point de la surface focale objet du condenseur.

Selon une version avantageuse de l'invention, le microscope est construit de sorte qu'une onde plane ait une image ponctuelle sur la surface de réception. La valeur de l'onde en un point de la surface de réception est alors égale à la valeur de la représentation fréquentielle de l'onde en un point correspondant.

Selon une version avantageuse de l'invention, une image intermédiaire de l'échantillon est formée et filtrée spatialement par un diaphragme, ce qui supprime les problèmes de repliement de spectre dus à la partie du trajet des faisceaux d'éclairage qui est à l'extérieur de la zone observée.

L'acquisition d'un enregistrement de l'onde diffractée par l'objet se fait par enregistrement successif de plusieurs figures d'interférences entre l'onde diffractée par l'objet et une onde de référence, la phase de l'onde de référence variant entre chaque acquisition et l'onde diffractée étant calculée point par point à partir de ces figures d'interférences. Plus l'intensité des figures d'interférence est élevée, moins le résultat est bruité. Mais lorsque les figures d'interférences deviennent trop intenses en un point, le capteur sature localement et le résultat de l'acquisition est localement invalide. Pour que le résultat de l'acquisition soit localement considéré comme valide, le capteur doit être non saturé au point considéré et en ses voisins immédiats, et ce pour l'ensemble des figures d'interférences utilisées. L'onde d'éclairage concentrée en un point peut être très supérieure en intensité à l'onde diffusée, répartie sur toute la zone de fréquences, et lorsque le capteur est non-saturé pour l'onde d'éclairage le bruit sur l'onde diffusée peut être considérable. Selon une version avantageuse de l'invention, un dispositif d'atténuation contrôlée du faisceau, ayant un ou plusieurs niveaux d'atténuation, est introduit pour résoudre ce problème. Le dispositif d'atténuation permet d'obtenir successivement plusieurs enregistrements différant par l'intensité de l'onde d'éclairage. Une valeur moins bruitée de l'onde diffractée est alors obtenue en combinant ces enregistrements. La valeur définitive de l'onde diffractée est calculée en chaque point à partir de l'enregistrement pour lequel l'intensité de l'onde reçue au point considéré est la plus élevée, mais pour lequel le capteur reste non-saturé au point considéré et en ses voisins immédiats pour l'ensemble des figures d'interférences permettant d'obtenir ledit enregistrement.

Les calculs de représentation fréquentielle tridimensionnelle mettent en oeuvre des quantités importantes de données. Ces données étant normalement accédées dans un ordre aléatoire, elles ne peuvent pas être stockées pendant les calculs sur un support à accès séquentiel comme un disque dur et doivent être stockées sur un support à accès aléatoire comme une mémoire interne d'ordinateur (RAM). Selon une version avantageuse de l'invention, l'algorithme de calcul est modifié de manière à traiter les données bloc par bloc, un bloc correspondant à une quantité importante de données qui peuvent alors être stockées séquentiellement sur un support à accès séquentiel et chargées en mémoire centrale uniquement pendant le temps de traitement dudit bloc. L'algorithme modifié effectue dans un espace

tridimensionnel des traitements plan horizontal par plan horizontal, chaque plan horizontal étant stocké sur le support à accès séquentiel en un seul bloc. Afin de pouvoir effectuer également des traitements suivant la dimension verticale, l'algorithme intègre des phases d'échange d'axes qui permettent de ramener provisoirement l'axe vertical dans un plan horizontal. La procédure d'échange d'axes opère bloc par bloc, les blocs ayant généralement des dimensions égales ou proches selon les deux axes à échanger et ayant pour taille en octets la taille maximale qui puisse être stockée en mémoire centrale du système (mémoire RAM à accès aléatoire).

Le microscope décrit génère des représentations tridimensionnelles sous la forme de tableaux à trois dimensions de nombres complexes stockés sur un support de données quel qu'il soit. Selon une version avantageuse de l'invention, il génère à partir de ces tableaux des images bidimensionnelles de l'objet observé, qui peuvent par exemple être des coupes ou des projections représentant par exemple la partie réelle ou imaginaire de la représentation tridimensionnelle, et qui peuvent être imprimées ou visualisées sur un écran d'ordinateur. Il peut également générer des images stéréoscopiques constituées de deux projections selon des directions différentes.

Description sommaire des dessins:

La Fig. 1 est un schéma d'ensemble de l'optique du microscope. Les Fig. 2 et 3 représentent le détail du positionneur angulaire (110) déjà représenté sur la Fig. 1. La Fig. 4 est un schéma d'ensemble du support mécanique vertical et antivibratoire du microscope. La Fig. 5 représente le détail d'un tendeur de la Fig. 4. La Fig. 6 représente un exemple de dimensionnement de la partie optique. Les Fig. 7 à 9 sont des représentations graphiques servant de support à l'explication du principe de fonctionnement du microscope. La Fig. 10 représente l'algorithme d'un programme permettant de régler les tensions de commande du piézoélectrique (122). La Fig. 11 représente l'algorithme détaillé d'une procédure de prise d'images utilisée dans le programme précédent. La Fig. 12 représente l'algorithme d'un programme permettant de régler l'atténuateur d'intensité constitué du polariseur (105) et du rotateur de polarisation (104) et d'obtenir ses caractéristiques. La Fig. 13 représente l'algorithme détaillé d'une procédure de prise d'images utilisée dans le programme précédent et dans les programmes d'acquisition d'image 2D ou 3D. La Fig. 14 représente l'algorithme d'un programme de focalisation permettant d'obtenir une image 2D et de focaliser l'objectif de microscope (113). La Fig. 15 représente l'algorithme d'un programme permettant de régler la position du condenseur (111) et d'obtenir certains paramètres du système. La Fig. 16 représente symboliquement une image affichée à l'écran par le précédent programme. La Fig. 17 représente graphiquement un calcul effectué par ce programme. La Fig. 18 représente l'algorithme du programme d'acquisition d'image tridimensionnelle. La Fig. 19 représente l'algorithme d'un programme de calcul générant à partir des résultats de l'acquisition une représentation tridimensionnelle de l'objet. La Fig. 20 représente schématiquement une opération effectuée par la première partie de ce programme. La Fig. 21 représente le détail de l'algorithme de cette première partie. La Fig. 22 représente schématiquement une opération effectuée

par la deuxième partie de ce programme. La Fig.23 représente l'algorithme d'une troisième partie de ce programme. La Fig.24 représente l'algorithme d'une dernière partie de ce programme.

Description d'un mode de réalisation particulier:

- 5 Selon le mode de réalisation préféré, les caractéristiques du microscope sont telles qu'exposées dans la suite du texte jusqu'au titre « variantes » non inclus.

caractéristiques matérielles:

- 10 Un faisceau laser de longueur d'onde 633 nm polarisé dans le sens orthogonal à la figure est émis par le laser hélium-néon (100) et traverse le filtre (101) constitué de zéro, un ou plusieurs filtres empilés, en verre teinté Schott. Il est ensuite séparé en un faisceau d'éclairage Fe et un faisceau de référence Fr par le miroir semi-transparent (102). Le faisceau d'éclairage traverse ensuite un filtre (103) du même type que (101), puis un rotateur de polarisation (104) à base de cristaux liquides ferroélectriques et commercialisé par la société Displaytech (Etats-Unis), et un polariseur (105). Le
- 15 faisceau traverse ensuite un achromat (106) puis un diaphragme (107) et un achromat (108). Il est réfléchi par un miroir (109) fixé sur un positionneur angulaire (110) commandé par deux moteurs pas à pas. Il traverse ensuite un condenseur (111) d'ouverture 1.2 et atteint l'objet (112). L'objet (112) est un échantillon placé entre lame et lamelle, dont l'absorptivité et les variations d'indice sont relativement faibles, et dont on veut obtenir une image tridimensionnelle. Les lentilles (106) et (108) doivent être
- 20 telles que le faisceau laser focalise dans le plan focal objet du condenseur (111) et ait une ouverture suffisante à son arrivée dans ce plan focal. Le faisceau est donc à nouveau parallèle lorsqu'il atteint l'objet (112). Le plan de l'objet doit être horizontal pour que l'huile optique nécessaire pour utiliser l'objectif et le condenseur à immersion ne coule pas. L'axe optique est donc vertical et les éléments de la Fig.1 sont fixés sur une plaque verticale (300) représentée sur la Fig.4.
- 25 Le positionneur angulaire (110) est détaillé sur les Fig.2 et 3. La Fig 2 représente une plaque sur laquelle le miroir (109) est collé, en vue de dessous. La Fig.3 représente l'ensemble du dispositif vu de côté. La plaque (200) est posée sur des plots de contact mobiles (205) et (212) dont les points de contact avec la plaque sont en (203) et (204), et sur un plot de contact fixe dont le point de contact est en (201), la plaque (200) étant légèrement creusée en ce point. Elle est maintenue par un ressort (210)
- 30 fixé à la plaque en (202) et à un plot fixe (211). Le plot de contact mobile (205) se déplace verticalement en translation et est intégré à un actuateur un axe de type classique: il est bloqué en rotation par un flexible (207) et est entraîné en translation par la rotation de la tige (206) sortant du moteur pas à pas (208) qui est par exemple un moteur pas à pas 400 pas/tour. L'entraînement se fait par exemple par l'intermédiaire d'un pas de vis. Le plot de contact (212) est de même entraîné par la
- 35 rotation du moteur (213). Le point de contact fixe (201) doit être dans l'axe optique de l'objectif (113) et le centre du miroir doit être sur ce point de contact. Les moteurs (208) et (213) sont fixés sur une plaque (209) elle-même fixée sur la plaque support (300).

L'onde issue de l'objet (112) traverse l'objectif de microscope (113). Cet objectif est un objectif plan (qui donne une image plane d'un plan), à grande ouverture (par exemple 1,25), à immersion, et formant une image aggrandie de l'objet à une distance finie.

Dans le plan où l'objectif forme normalement l'image de l'objet à observer, on interpose un diaphragme (114) permettant un filtrage spatial de l'image. En arrière de ce plan on positionne un achromat (115) dont le plan focal objet doit être confondu avec le plan focal image de l'objectif (113). Un second achromat (117) dont le plan focal image est dans le plan d'un capteur CCD (118) forme dans le plan de ce CCD l'image du plan focal image de l'objectif (113). Le CCD (118) est intégré à une caméra (119) sortant un signal vidéo analogique.

Le faisceau de référence traverse d'abord un filtre (120) de même type que (101) puis est réfléchi par un miroir (121) monté sur l'extrémité mobile d'un translateur piézoélectrique (122). Il traverse ensuite une lentille (123) qui focalise le faisceau en un point. Le faisceau divergent issu de ce point est réfléchi partiellement par le miroir semi-réfléchissant (116), ce qui le superpose au faisceau issu de l'objet et permet d'enregistrer leurs interférences sur le CCD (118). Le point de focalisation du faisceau issu de la lentille (123) doit avoir son image virtuelle après réflexion sur le miroir semi-transparent (116) au centre de l'image du diaphragme (114) par l'achromat (115). Le translateur piézoélectrique (122) permet de moduler la phase du faisceau de référence.

Les positionneurs manuels utilisés dans le système ne sont pas représentés sur la figure. L'objectif de microscope (113) est monté sur un dispositif de focalisation. Le laser (100) est monté sur un positionneur deux axes permettant d'en régler la direction. La partie fixe de la pile piézoélectrique (122) est montée sur un positionneur deux axes permettant une rotation par rapport à un axe orthogonal au plan de la figure et passant par le centre du miroir (121), et par rapport à un second axe situé dans le plan du miroir (121), orthogonal au premier axe et passant par le centre du miroir (121). Le condenseur est monté sur un positionneur trois axes en translation. La caméra (119) est montée sur un positionneur 6 axes: trois axes de translation et trois axes de rotation passant par le centre du CCD (119). La position angulaire des miroirs semi-transparents (102) et (116) peut être ajustée manuellement. La lentille (106) peut être traduite suivant son axe. L'objet (112) est fixé sur un positionneur à deux dimensions permettant de le déplacer dans un plan horizontal. Le diaphragme (114) peut être déplacé dans un plan horizontal.

L'ensemble est fixé sur la plaque support (300), du côté de la plaque opposé au point de vue de la Fig. 4. Cette plaque est fixée à deux plaques triangulaires (301) et (302) elles-mêmes fixées à une base carrée (303). La plaque (300) est également fixée directement à la base carrée (303). Les plaques (300)(301)(302)(303) sont en alliage d'aluminium rigide AU4G, par exemple d'épaisseur 20 mm. La fixation des plaques peut se faire par des vis et des trous taraudés, et doit être faite en un nombre de points suffisant pour assurer une rigidité parfaite de l'ensemble. Ceci permet de maintenir le système à la verticale en assurant une rigidité suffisante. L'ensemble est posé sur un support antivibratoire constitué d'une plaque en granit (304) d'épaisseur 30 mm posée sur une chambre à air de camionnette

gonflée à faible pression (305) qui amortit les vibrations et qui est elle-même posée sur une table rigide en bois (306). Un cadre rigide en bois (311) est fixé en hauteur par l'intermédiaire de montants (307) (308)(309)(310) à la table (306). L'ensemble de la construction en bois est renforcé de manière à être parfaitement rigide. Le haut de la plaque (300) est relié par des tendeurs (312)(313)(314)(315) aux
 5 coins du cadre rigide. Chaque tendeur, détaillé sur la Fig.5, est constitué d'un ensemble de bracelets élastiques (316) tendus entre deux anneaux (318)(317), ces anneaux étant eux-mêmes fixés à la plaque (300) et au cadre (311) par des cordelettes (320)(319), l'ensemble étant mis sous tension. La chambre à air (305) permet d'avoir pour l'ensemble suspendu en AU4G de faibles fréquences de résonnance pour les mouvements de translation, de l'ordre de 2 Hz. Les tendeurs (312) à (315) permettent de limiter le
 10 balancement de l'ensemble. La fréquence de balancement peut être évaluée simplement en imprimant un léger mouvement de balancier à l'ensemble et en mesurant le temps nécessaire pour avoir, par exemple, dix allers-retour. La fréquence de balancement se règle en modifiant le nombre de bracelets élastiques utilisés pour chaque tendeur. Plus il est élevé, plus la fréquence de balancement augmente. Il doit être réglé pour que la fréquence de balancement soit du même ordre que la fréquence de résonnance
 15 pour les mouvements de translation, soit environ 2Hz.

Le montage des divers éléments sur la plaque (300), et en particulier des miroirs et miroirs semi-transparents, doit être effectué de manière à assurer une rigidité maximale de l'ensemble. Toutes les précautions usuelles doivent être prises de manière à limiter les vibrations.

Les précisions suivantes concernent un exemple particulier de dimensionnement pratique du
 20 dispositif. Les distances citées sont représentées sur la Fig.6. Les dimensions données sont approximatives et certaines d'entre elles doivent être corrigées dans une phase de réglage. La lentille (106) est un achromat de distance focale 10 mm. La lentille (108) est un achromat de diamètre 24 mm et de distance focale 120 mm. La distance D7 entre (106) et (108) est de 250 mm. La distance D6 entre la lentille (108) et le centre du miroir (109) est de 100 mm. La distance D5 entre le centre du miroir
 25 (109) et le plan focal objet du condenseur est de 140 mm. Le condenseur est un condenseur fond clair à immersion d'ouverture 1.2. L'objectif de microscope est un objectif plan x100 d'ouverture 1,25, à distance finie, formant l'image à 160 mm du col de l'objectif, de distance focale environ 1,8 mm. La distance D4 entre le col de l'objectif et le diaphragme (114) est de 160 mm. La distance D3 entre le diaphragme (114) et l'achromat (115) est de 20 mm. L'achromat (115) a une distance focale de 200
 30 mm et un diamètre de 30 mm et sa face la plus bombée est orientée vers le miroir semi-transparent (116). L'achromat (117) a les mêmes caractéristiques et sa face la plus bombée est également orientée vers le miroir (116). La distance D2 entre les deux achromats est de 85 mm, permettant d'insérer un miroir semi-transparent (116) de dimensions suffisantes. La distance entre l'achromat (117) et le CCD (118) est de 200 mm. La lentille (123) a un diamètre de 4mm et une distance focale de 6mm. La
 35 distance D9 entre cette lentille et l'axe optique est d'environ 70 mm. La distance D8 entre l'achromat (115) et le centre du miroir semi-transparent (116), situé sur l'axe optique, est d'environ 45 mm. Le laser (100) est un laser hélium-néon de longueur d'onde dans le vide $\lambda_v = 633$ nm polarisé dans le sens

orthogonal à la figure, de puissance environ 0,5 mW, de diamètre de faisceau 0,5 mm. Le capteur CCD est un capteur à pixels carrés, la surface du pixel étant d'environ $8,5 \times 8,5$ micromètres, et la surface utile en pixels étant de dimension au moins égale à 512×512 pixels. La caméra sort un signal vidéo CCIR et une horloge pixel, et son temps d'exposition est égal à la moitié de la durée d'un champ, soit

5 1/50e de seconde pour une caméra CCIR non entrelacée dont les champs durent 1/25e de seconde. Ceci permet d'avoir un délai entre la fin d'un champ et le début de la période d'exposition suivante, délai qui peut être utilisé pour modifier les conditions d'éclairage sans que la transition influe sur l'image. Le positionneur piézoélectrique (122) est une 'pile' piézoélectrique précontrainte en forme de cylindre dont le corps est fixe et l'extrémité se déplace de 15 micromètres pour une tension appliquée de 100 Volts.

10 Le système de calcul est par exemple un ordinateur type 'PC', doté de cartes d'acquisition et de commande appropriées et éventuellement de moyens de calcul supplémentaires, fonctionnant par exemple sous le système d'exploitation Windows 95. La carte d'acquisition du signal vidéo, fonctionnant en temps réel, échantillonne le signal sur 8 bits et acquiert des images de taille $h_{pix} \times v_{pix}$ ou h_{pix} et v_{pix} sont supérieurs à 512 et multiples de 4. Les pixels sont échantillonnés suivant l'horloge

15 pixel, donc correspondent exactement aux pixels du CCD. Le positionneur piézoélectrique est piloté directement par une carte de conversion digitale/analogique sortant un signal compris par exemple entre zéro et U_{max} , avec par exemple $U_{max} = 10$ volts. Une résistance est interposée entre la sortie de la carte de conversion et les bornes de l'actionneur piézoélectrique de manière à limiter le courant. Sa

20 valeur est réglée de sorte que le temps de montée de la tension aux bornes de l'actionneur (122) soit d'environ 1 ms. Le rotateur de polarisation (104) est équivalent à une lame demi-onde dont l'axe peut tourner et a deux positions d'équilibre séparées par un angle de 45 degrés. S'il est positionné de manière à ce que le faisceau polarisé soit parallèle à cet axe dans une des positions d'équilibre, il fera tourner le faisceau de 90 degrés dans l'autre position. Le rotateur de polarisation est piloté par

(application d'une tension bipolaire, -5V correspondant à une position d'équilibre et +5V à l'autre.

25 Chaque borne du rotateur de polarisation est reliée à une sortie 0/5V d'une carte de sortie numérique, et ses deux positions sont commandées en appliquant dans un cas 0V à une sortie et 5V à l'autre, et en inversant pour l'autre position. Les moteurs pas à pas (208) et (212) sont également pilotés depuis l'ordinateur, via une carte de commande et une électronique appropriées. L'ordinateur est doté d'une mémoire interne suffisante (au moins 32 Mo) et d'un disque dur de taille suffisante (au moins 4 Go).

30

Conventions diverses

Les conventions suivantes seront utilisées dans la suite de cette description:

-La lettre j représente tantôt un indice, tantôt le nombre complexe imaginaire pur de module 1.

Dans le cas où il peut y avoir ambiguïté le nombre complexe j sera noté \bar{j} .

35 - le signe = symbolise suivant les cas l'opération d'affectation ou l'égalité

-l'expression $a+=b$ signifie $a=a+b$

- a multiplié par b est écrit ab , $a.b$ ou $a*b$

-le module d'un nombre complexe z est noté $|z|$ et son conjugué est noté \bar{z} .

- La transformée de Fourier discrète, dans sa forme la plus usuelle, transforme un Dirac situé à l'origine en une constante et transforme une constante en un point situé à l'origine. La transformée de Fourier discrète utilisée dans l'ensemble de ce brevet transforme une constante en un Dirac situé au milieu du tableau transformé et transforme un Dirac situé en ce point en une constante. Ceci signifie que le 'zéro' en fréquence ou en position est placé au milieu du tableau et non à l'origine du tableau. Cette transformée modifiée s'obtient à partir de la forme usuelle en effectuant avant et après la transformation une permutation d'indices. Un tableau E de dimension $fdim$ est transformé comme suit:

1-première permutation: $E[i]=E[(i+fdim/2)\%fdim]$

10 2- transformation de Fourier usuelle du tableau E

3- permutation inverse: $E[i]=E[(i+fdim/2)\%fdim]$

ou le signe % désigne le modulo.

-La transformée de Fourier bidimensionnelle d'un tableau de lignes et colonnes est obtenue en effectuant la transformation de Fourier monodimensionnelle définie ci-dessus sur chaque ligne du tableau, ce qui génère un tableau intermédiaire, puis en effectuant cette transformation sur chaque colonne du tableau intermédiaire pour obtenir le tableau transformé.

-De même, la transformée de Fourier tridimensionnelle consiste à effectuer successivement selon chaque axe des transformées monodimensionnelles étendues à l'ensemble du tableau.

20 Principes de fonctionnement

La valeur de l'onde lumineuse issue de l'objet sous un éclairage donné en un point du capteur CCD est obtenue à partir de l'enregistrement de trois figures d'interférences reçues sur le capteur, la phase de l'onde de référence étant décalée de 120 degrés entre chacune de ces figures.

Si s est la vibration lumineuse issue de l'objet et r est la vibration lumineuse constituant l'onde de référence lors du premier enregistrement, les vibrations lumineuses totales parvenant au capteur lors

des trois enregistrement successifs sont: $s_0 = s + r$, $s_1 = s + re^{j\frac{2\pi}{3}}$, $s_2 = s + re^{-j\frac{2\pi}{3}}$. Les intensités enregistrées successivement sont donc:

$$|s_0|^2 = |s|^2 + |r|^2 + (s\bar{r} + \bar{s}r)$$

$$|s_1|^2 = |s|^2 + |r|^2 + \left(s\bar{r}e^{-j\frac{2\pi}{3}} + \bar{s}re^{j\frac{2\pi}{3}} \right)$$

$$30 \quad |s_2|^2 = |s|^2 + |r|^2 + \left(s\bar{r}e^{j\frac{2\pi}{3}} + \bar{s}re^{-j\frac{2\pi}{3}} \right)$$

On peut inverser ces formules et on obtient:

$$s \frac{\bar{r}}{|r|} = \frac{1}{6|r|} (2|s_0|^2 - |s_1|^2 - |s_2|^2) + j \frac{1}{2\sqrt{3}|r|} (|s_1|^2 - |s_2|^2)$$

La valeur ci-dessus est la vibration lumineuse provenant de l'objet seul, la référence de phase étant conventionnellement égale à zéro pour une vibration en phase avec l'onde de référence. Ce calcul permet donc de reconstituer la valeur complexe de l'onde à partir des enregistrements d'intensité.

- 5 Par construction, chaque point du capteur CCD correspond à une fréquence pure f_c de l'onde provenant de l'échantillon. On appelle centre optique du capteur le point du capteur illuminé par un rayon entrant dans l'objectif avec une direction strictement parallèle à l'axe de symétrie de ce dernier et on note C_x, C_y ses coordonnées en pixels. L'objectif vérifiant la condition des sinus, la déviation en sortie d'objectif d'un rayon originaire d'un point central de l'objet est proportionnelle au sinus de son

10 angle d'entrée dans l'objectif, qui vaut $\sin \varphi = \frac{\sqrt{f_x^2 + f_y^2}}{\sqrt{f_x^2 + f_y^2 + f_z^2}}$, ou (f_x, f_y, f_z) sont les coordonnées

du vecteur fréquence spatiale du faisceau en entrée de l'objectif, de norme $\frac{1}{\lambda}$ ou λ est la longueur

d'onde dans le milieu observé, et de direction la direction du faisceau. Le reste du système optique étant paraxial, la déviation du point d'arrivée du rayon sur le capteur par rapport au centre optique du capteur est également proportionnelle à cette grandeur, et donc les coordonnées $(i - C_x, j - C_y)$ de ce point par

- 15 rapport au centre optique sont proportionnelles à (f_x, f_y) . Dans le cas où le capteur a des pixels carrés, le vecteur fréquence en entrée de l'objectif du rayon qui illumine le point du capteur de coordonnées

$$(i, j) \text{ vaut donc: } f_c(i, j) = \frac{1}{K\lambda} \left(i - C_x, j - C_y, \sqrt{K^2 - (i - C_x)^2 - (j - C_y)^2} \right)$$

ou K est une constante à déterminer. On appellera 'fréquence caractéristique' du point ce vecteur fréquence.

- 20 Connaissant la fréquence caractéristique de chaque point du capteur et la vibration lumineuse issue de l'objet et reçue en ce point, on obtient donc, pour un éclairage donné de l'échantillon, la représentation fréquentielle de l'onde issue de cet échantillon.

Lorsqu'un échantillon suffisamment fin, peu absorbant et de faibles variations d'indice est traversé par un faisceau laser parallèle, chaque point de l'échantillon est soumis à une vibration

- 25 lumineuse $Ae^{j2\pi f_e \cdot r}$ ou f_e est le vecteur fréquence spatiale du faisceau d'éclairage et r le rayon-vecteur au point considéré de l'objet, l'origine étant prise au point d'origine virtuel de l'onde de référence. L'absorptivité et les variations d'indice de l'échantillon se traduisent par l'apparition d'une onde secondaire qui se superpose à l'onde d'éclairage. Un petit volume dV crée une onde secondaire $Ae^{j2\pi f_e \cdot r} u(r) dV$ ou $u(r)$ est un coefficient complexe dont la partie réelle est liée à l'absorptivité

locale de l'échantillon et la partie imaginaire à son indice. L'image tridimensionnelle de l'échantillon que ce microscope génère est l'ensemble des valeurs $u(r)$ en chaque point de l'échantillon.

Lorsque un point de l'échantillon, de rayon-vecteur r , émet localement une vibration lumineuse $s(r)$, la vibration lumineuse reçue sur le capteur en un point de fréquence caractéristique f_c vaut alors $s(r)e^{-j2\pi f_c r}$. Un petit volume dV de l'objet, de rayon-vecteur r , éclairé par une onde plane de fréquence f_e , crée donc au point du capteur de fréquence caractéristique f_c une vibration $Ae^{j2\pi(f_e - f_c)r} u(r)dV$ qui se superpose à la vibration principale. Intégré sur l'ensemble de l'objet, la vibration reçue en un point du capteur vaut donc $s(P) = \iiint Ae^{j2\pi(f_e - f_c)r} u(r)dV$. Cette vibration est donc un élément de la transformée de Fourier de la fonction $u(r)$, correspondant à la fréquence de Fourier $f_l = f_e - f_c$. Le principe de ce microscope est d'enregistrer cette vibration pour un ensemble de fréquences f_e et f_c , puis de reconstituer la représentation fréquentielle de $u(r)$ et finalement $u(r)$ en inversant la transformée de Fourier.

Les échantillons étudiés sont peu absorbants et ont de faibles variations de l'indice de réfraction. Par conséquence l'onde d'éclairage reste très intense et illumine un point du CCD, que l'on appellera point d'impact de l'onde d'éclairage, et qui est le point du CCD où la vibration lumineuse reçue est la plus élevée. Si ce point a pour coordonnées $(imax, jmax)$ alors la fréquence de l'onde d'éclairage est:

$$f_e = \frac{1}{K\lambda} \left(imax - C_x, jmax - C_y, \sqrt{K^2 - (imax - C_x)^2 - (jmax - C_y)^2} \right)$$

Dans les équations ci-dessus la référence de phase est la phase de l'onde d'éclairage au point de rayon-vecteur $r=0$. Or dans une représentation fréquentielle bidimensionnelle acquise directement sur le capteur CCD, la référence de phase est la phase de l'onde de référence en ce point. De plus, dans les équations ci-dessus, on suppose constante l'intensité de l'onde d'éclairage. Il est donc nécessaire de normaliser la représentation bidimensionnelle en phase et en intensité par rapport à l'onde d'éclairage, pour se ramener à des conditions standard qui sont une phase nulle et une intensité unitaire de cette onde d'éclairage au point $r=0$, c'est-à-dire que le point correspondant de la représentation fréquentielle doit avoir une valeur de 1. Ceci est fait en divisant l'ensemble de la représentation fréquentielle bidimensionnelle par sa valeur au point de coordonnées $(imax, jmax)$.

La figure 7 montre l'ensemble (500) des fréquences caractéristiques correspondant aux points du capteur. Il s'agit d'une portion de sphère de rayon $\frac{1}{\lambda}$, limitée par l'ouverture de l'objectif, centrée sur l'axe optique (501) du système. Un exemple de vecteur fréquence d'éclairage (502) est superposé à cet ensemble. Enfin, l'ensemble(503) des fréquences $f_l = f_c - f_e$ correspondantes en est déduit. Lorsque l'on fait varier les fréquences d'éclairage selon un cercle (504) comme indiqué sur la figure 8,

l'ensemble des fréquences enregistrées est celui généré par la rotation de la portion de sphère (503) autour de l'axe (501) dans un plan horizontal, comme l'indique la vue en coupe de la Fig. 9. On obtient donc une représentation fréquentielle tridimensionnelle (et non plus bidimensionnelle comme dans le cas où un seul enregistrement est utilisé). A partir de cette représentation tridimensionnelle dans l'espace des fréquences, on peut générer la fonction $u(r)$ par transformation de Fourier inverse.

L'opération de normalisation décrite dans la description de l'invention est constituée, dans ce mode de réalisation, d'une part de la normalisation en phase et intensité par rapport à l'onde d'éclairage dans le domaine fréquentiel, d'autre part par la translation de vecteur $-f_e$ permettant d'obtenir les fréquences $f_t = f_c - f_e$. En effet, l'opération de normalisation en phase et intensité ramène à 1 la valeur de l'onde d'éclairage au point de rayon-vecteur nul, et la translation de vecteur $-f_e$ démodule cette onde d'éclairage et en ramène à 1 la valeur en tout point. Ceci équivaut effectivement à diviser en tout point de la représentation spatiale l'onde lumineuse reconstruite dans l'échantillon par l'onde d'éclairage au même point.

L'opération de moyennage décrite dans la description de l'invention consiste, dans ce mode de réalisation, à calculer la représentation fréquentielle tridimensionnelle comme moyenne des représentations fréquentielles bidimensionnelles normalisées. Cependant on n'obtient pas de cette manière la représentation fréquentielle de $u(r)$. Pour obtenir la représentation fréquentielle de $u(r)$ il faut limiter le moyennage en chaque point à l'ensemble des représentations fréquentielles atteignant ce point, de manière à ne pas sous-évaluer les valeurs associées aux points qui sont atteints rarement.

Cette méthode pose un problème pratique qui est que le point éclairé directement par le faisceau traversant l'échantillon est illuminé de manière beaucoup plus intense que les points correspondant à l'onde diffractée. La représentation tridimensionnelle générée lors d'une prise d'image contient essentiellement des fréquences proches de celle du faisceau d'éclairage, les autres fréquences étant noyées dans le bruit. Pour remédier à cet inconvénient, on utilise un dispositif d'atténuation contrôlée du faisceau. La partie de la représentation fréquentielle correspondant aux fréquences sur lesquelles l'intensité est élevée est obtenue avec une forte atténuation et celle correspondant aux autres fréquences est obtenue avec une faible atténuation. Les valeurs obtenues sous forte atténuation sont ensuite multipliées par un coefficient complexe caractéristique du décalage de phase et du rapport d'amplitude de l'onde d'éclairage entre les deux positions du dispositif d'atténuation contrôlé. Ce dispositif d'atténuation contrôlée est constitué du rotateur de polarisation (104) et du polariseur (105).

La représentation tridimensionnelle obtenue à partir d'images de taille $h_{pix} \times v_{pix}$ correspond à des tailles de fichiers importantes. Afin de limiter la taille des fichiers et le temps de calcul, la taille des images sera divisée par deux par moyennage lors de la procédure d'acquisition de la représentation tridimensionnelle. Ceci équivaut à grouper les pixels 4 par 4, un groupe de 4 pixels sur l'image originale étant équivalent à un pixel effectif utilisé pour le calcul. La taille de l'objet observable est bien sûr réduite en conséquence. Les valeurs de C_x , C_y et K sont divisées par 2 pour tenir compte du

nouveau système de coordonnées. Cette limitation de la taille d'image observée est bien entendu facultative.

Avant de pouvoir utiliser ce microscope, divers réglages doivent être effectués: réglage des positionneurs manuels, obtention de paramètres nécessaires à la prise d'image ou au calcul, réglage du dispositif d'atténuation contrôlée. L'utilisation du microscope proprement dite comporte une phase de focalisation sur l'échantillon, suivie d'un dernier réglage, puis une phase d'acquisition des représentations fréquentielles bidimensionnelles normalisées, une phase de calcul tridimensionnel et une phase de visualisation. Les réglages des positionneurs manuels permettent de régler correctement la trajectoire du faisceau, de s'assurer que l'image d'une onde plane sur la caméra soit effectivement ponctuelle, que le condenseur forme bien à sa sortie un faisceau parallèle. Le réglage des tensions de commande du piézoélectrique permet d'avoir des décalages de phase correspondant effectivement à 120 degrés. Le réglage de l'atténuateur d'intensité permet d'avoir une atténuation du niveau nécessaire, correspondant à une amplitude du signal divisée par 8 (intensité divisée par 64), et d'obtenir la valeur exacte du coefficient complexe caractéristique de cette atténuation. Le réglage fin de la position du condenseur permet de s'assurer que l'extrémité du vecteur fréquence de l'onde d'éclairage puisse effectivement parcourir le cercle indiqué plus haut sans que le faisceau sorte de la zone observée. L'onde de référence doit être réglée à un niveau convenable et enregistrée. L'onde d'éclairage doit également être réglée à un niveau convenable avant de lancer l'acquisition.

20 Manipulation des filtres

Les opérations de réglage nécessitent des manipulations permanentes des filtres pour ajuster l'intensité reçue sur le capteur. Ces manipulations ne sont pas systématiquement rappelées dans la suite du texte.

Le filtre en (120) détermine l'intensité de l'onde de référence. Sa valeur est déterminée dans une étape particulière du réglage. Par la suite, lorsqu'une onde de référence est nécessaire, le filtre ainsi déterminé est inséré. Lorsque l'onde de référence doit être supprimée, on insère un élément opaque en (120).

Le filtre en (103) détermine l'intensité de l'onde d'éclairage. Sa valeur dépend des opérations de réglage en cours. Pour la plupart des opérations, le filtre est ajusté de manière à ce que l'intensité reçue sur le capteur (118) soit élevée, sans atteindre la saturation. Pour certaines opérations le capteur est saturé. Pour d'autres l'onde d'éclairage doit être supprimée, ce qui se fait par insertion d'un élément opaque.

Le filtre en (101) est utilisé uniquement pour les opérations de réglage nécessitant un suivi visuel du faisceau, repéré par sa tache de diffusion sur un morceau de papier blanc. Le filtre est alors réglé pour que la tache de diffusion soit visible sans être dangereuse pour l'œil.

Dans les cas où seule l'onde d'éclairage est présente, on appellera intensité relative de l'image reçue sur le capteur CCD le rapport de l'intensité reçue sur le capteur à l'intensité en sortie du filtre

(103). Dans une opération où on cherche à maximiser l'intensité relative reçue sur le capteur, on est amené à changer de filtre régulièrement pour maintenir l'intensité à un niveau mesurable par le capteur.

5 Programmes d'usage courant

Certains programmes simples sont utilisés fréquemment pendant le réglage, sans que cela soit rappelé:

- déplacement du miroir (109): ce miroir étant motorisé, un programme est nécessaire pour en modifier la position. Ce programme demande à l'utilisateur un nombre de pas et un numéro d'axe correspondant soit au moteur (213) soit au moteur (208), puis fait effectuer le nombre de pas demandé à ce moteur.

- Visualisation de l'image reçue sur le capteur: un programme permet l'affichage direct sur l'écran de l'ordinateur de l'image reçue sur le capteur (118).

- Visualisation de l'image et caractéristiques du maximum: ce programme effectue l'affichage direct sur l'écran de l'ordinateur de l'image reçue sur le capteur (118). Il affiche en plus la valeur maximale détectée par le capteur, les coordonnées du point correspondant, et le rapport entre l'intensité de ce point et la somme des intensités de ses 8 voisins. Ce programme est utilisé pour vérifier l'apparence d'une image, pour vérifier la non-saturation du capteur (valeur maximale inférieure à 255), pour connaître les coordonnées et la valeur du maximum, pour apprécier le caractère ponctuel de ce maximum par observation directe de l'image et par utilisation des valeurs affichées: l'intensité (relative) du maximum doit être aussi élevée que possible, ainsi que le rapport de son intensité à celle de ses voisins.

réglage de la position du laser (100) et du miroir (121)

25 Dans un premier temps l'onde d'éclairage est supprimée et la position du laser (100) est réglée de façon à viser effectivement le centre du miroir (121), ce qui se vérifie en suivant le trajet du faisceau à l'aide d'un morceau de papier permettant de le visualiser. La position du miroir (121) est ensuite ajustée de manière à ce que le faisceau de référence traverse effectivement la lentille (123) et parvienne à la caméra. Le faisceau de référence doit être centré sur le capteur (118).

30

réglage en translation de la position de la caméra et réglage du miroir (102)

La position de la caméra est réglée en translation en envoyant directement un faisceau parallèle sur l'objectif de microscope. A cet effet, les éléments (106)(108)(111)(105)(104) sont provisoirement enlevés, l'onde de référence est supprimée, l'objectif de microscope est positionné en position à peu près focalisée sur l'objet. L'objet (112) utilisé est une lame transparente et de l'huile optique est interposée entre (112) et (113). La position angulaire de (102) est alors ajustée pour que le faisceau parvienne directement au centre du miroir (109). La position du miroir (109) est réglée de sorte que le faisceau

35

parallèle entre directement dans l'objectif (113) et est affinée de manière à maximiser l'intensité relative du signal reçu sur le capteur CCD. La position du capteur CCD est alors réglée en translation dans la direction de l'axe optique de manière à ce que l'image produite soit parfaitement ponctuelle, puis est réglée en translation dans les directions orthogonales à l'axe optique de sorte que ce point soit
 5 au centre de la zone utile du capteur. Ce point central est le centre optique et ses coordonnées en pixels sont les constantes C_x, C_y .

réglage de la position du condenseur (111)

Les éléments (106)(108)(111) sont remis en place. De l'huile pour microscope est interposée
 10 entre (111) et (112) et entre (112) et (113). Un morceau de carton blanc est posé sur le miroir (109) pour diffuser la lumière. Le diaphragme (107) est ouvert au maximum et l'ouverture du diaphragme (114) est d'environ 8 mm. L'objectif de microscope est mis en position à peu près focalisée. La position du condenseur (111) est alors réglée de manière à obtenir sur le CCD un disque clair de rayon élevé, le disque devant rester relativement homogène (les bords et le centre sont toutefois un peu plus éclairés).

15

réglage en rotation de la position de la caméra et réglage de la position de la lentille (106)

Le morceau de carton blanc posé sur le miroir (109) est supprimé. La position du miroir est modifiée de manière à amener le point éclairé sur le bord du disque précédemment obtenu, en un point de coordonnées $(x,0)$ avec $x>0$, l'axe x étant pris selon un axe situé dans le plan de la figure 1 et l'axe y
 20 selon un axe orthogonal à ce plan. La position de la lentille (106) est alors ajustée selon son axe de manière à avoir sur le capteur CCD l'image la plus ponctuelle possible. La position de (109) est alors modifiée pour amener le point éclairé sur le bord opposé du disque. La position de (119) est alors ajustée en rotation par rapport à l'axe orthogonal au plan de la figure, de manière à améliorer la ponctualité, et la position de (106) est également ajustée. Une partie de l'ajustement doit se faire par la
 25 position de (106) et une partie par la position de (119). Le point éclairé est alors ramené sur le bord initial du disque et la même procédure est répétée alternativement sur chaque bord jusqu'à ce que la ponctualité soit optimale des deux cotés, ce qui est obtenu très rapidement en pratique. Le point éclairé est alors amené sur le bord haut du disque, en un point de coordonnées $(0,y)$ avec $y>0$, et la position angulaire de la caméra est ajustée pour avoir la meilleure ponctualité possible. Le point éclairé est alors
 30 ramené vers le bord opposé du disque pour vérifier la ponctualité et éventuellement opérer une dernière correction. A ce point, la position de la caméra est entièrement ajustée.

Détermination du nombre de pas par pixel.

Le morceau de papier occultant le miroir est alors enlevé. Le moteur est déplacé suivant un axe d'un
 35 nombre de pas connu. La position en pixels du point d'intensité maximale est notée avant et après le déplacement, et le nombre de pixels parcourus en est déduit. On calcule alors le rapport

$pas_par_pixel = \frac{\text{nombre de pas}}{\text{nombre de pixels}}$. On effectue de même sur l'autre axe et on retient le plus petit rapport obtenu.

réglage du niveau de l'onde de référence

5 Si on considère une onde de référence et une onde d'éclairage ayant même intensité maximale à leur arrivée sur le capteur, s'additionnant en amplitude lorsqu'elles sont en phase, la condition de non-saturation du capteur est que l'amplitude commune des deux ondes soit la moitié de l'amplitude saturant le capteur, ou de manière équivalente que l'intensité commune des deux ondes soit le quart de l'intensité saturant le capteur. Pour régler le niveau de l'onde de référence à cette valeur, l'onde
10 d'éclairage est supprimée et la valeur du filtre (120) est ajustée pour obtenir une image dont le niveau maximal est d'environ le quart du niveau maximal autorisé par la carte d'acquisition, soit dans le cas d'un échantillonnage sur 8 bits du signal vidéo, un niveau d'environ 64. Avant la prise d'images, le niveau maximal de l'onde d'éclairage devra être réglé de la même façon.

réglage des tensions de commande de l'actuateur piézoélectrique

15 L'étape suivante consiste à régler les tensions de commande de l'actuateur piézoélectrique. Ceci est fait en utilisant un programme qui fait varier les tensions de commande et qui est décrit par l'algorithme de la figure 10. Avant de lancer le programme, la position du miroir (109) doit être réglée de manière à ce que le point produit sur le capteur CCD en utilisant pour objet une lame complètement
20 transparente soit au centre du capteur. Pour utiliser ce programme, l'objet utilisé doit être fortement diffusant. On pourra par exemple utiliser un morceau de papier blanc trempé dans de la gélatine puis placé entre lame et lamelle. Le papier doit être suffisamment épais pour arrêter le faisceau direct et suffisamment fin pour laisser passer un faisceau diffusé. Le diaphragme (107) est ouvert au maximum et le diaphragme (114) est réglé pour une ouverture d'environ 0,8 mm. L'onde de référence interfère
25 alors sur le capteur CCD avec le disque clair produit par l'onde issue de l'objet. L'intensité de l'onde d'éclairage doit être réglée pour que le capteur soit en limite de saturation.

Si la tension maximale appliquée à l'actuateur est U_{max} , les tensions correspondant aux décalages de phase de $-\frac{2\pi}{3}$, 0, $\frac{2\pi}{3}$ seront respectivement $U_{max}/2 - diff_bas$, $U_{max}/2$, $U_{max}/2 +$

$diff_haut$, ou $diff_haut$ et $diff_bas$ sont choisis pour produire les décalages de phase indiqués. Afin
30 d'éviter tout effet d'hystérésis, à chaque acquisition la tension est initialisée à 0, les différentes images sont acquises dans l'ordre croissant des tensions appliquées à l'actuateur et une tension finale U_{max} est finalement appliquée, de sorte que le même cycle est toujours utilisé. Ce cycle devra également être utilisé en phase normale de fonctionnement. Les images prises avec les décalages de phase indiqués plus haut permettent de calculer une représentation fréquentielle en appliquant à chaque pixel P la
35 formule

$$S(P) = \left[\frac{1}{6} \left(2I(P, 0) - I\left(P, \frac{2\pi}{3}\right) - I\left(P, -\frac{2\pi}{3}\right) \right) + j \frac{1}{2\sqrt{3}} \left(I\left(P, \frac{2\pi}{3}\right) - I\left(P, -\frac{2\pi}{3}\right) \right) \right]$$

dans laquelle l'onde de référence a été remplacée par une constante et l'expression $I(P, \alpha)$ désigne l'intensité enregistrée au point P pour un décalage de phase α .

Le réglage des tensions de commande de l'actuateur consiste à évaluer *diff_haut* et *diff_bas*.

- 5 Le principe est d'obtenir deux représentations fréquentielles décalées entre elles de $\frac{\pi}{3}$. La deuxième

image peut être recalée en phase en la multipliant par $e^{-j\frac{\pi}{3}}$ et l'écart moyen entre la première image et cette image recalée peut être calculé. Cet écart est minimal lorsque les tensions *diff_haut* et *diff_bas* sont correctement réglées. Les décalages de phase permettant l'acquisition de la 2ème image

élémentaire en fréquence sont donc $-\frac{2\pi}{3} + \frac{\pi}{3}$, $\frac{\pi}{3}$, $\frac{2\pi}{3} + \frac{\pi}{3}$ et correspondent respectivement, en

- 10 première approximation, aux tensions $U_{max}/2 - \text{diff_bas} + \text{diff_bas}/2$, $U_{max}/2 + (\text{diff_bas} + \text{diff_haut})/2$, $U_{max}/2 + \text{diff_haut} + \text{diff_haut}/2$. Le programme de réglage calcule l'écart moyen pour des séries de valeurs de *diff_haut* et *diff_bas* et choisit celles qui correspondent à un écart moyen minimal. Son algorithme est détaillé sur la figure 10.

Les étapes essentielles de cet algorithme sont:

- 15 (600): acquisition des images. La procédure d'acquisition est précisée sur la Fig.11. Par 'les images' on entend ici 6 figures d'interférences reçues consécutivement par le capteur CCD. Cette procédure effectue toujours le même cycle commençant par la tension 0 et finissant par la tension U_{max} . Le temps d'attente après l'application d'une tension nulle au piézoélectrique permet à celui-ci de se stabiliser. Le temps d'attente avant le lancement de l'acquisition évite d'acquérir une trame qui
- 20 aurait été exposée avant l'application des conditions d'exposition voulues. La fin de l'exposition d'une image est signalée sur les cartes d'acquisition par le début du transfert de l'image correspondante. L'utilisation d'un temps d'exposition inférieur au temps de transfert de l'image permet à l'image de ne pas être affectée par les états transitoires. La mise du processus en priorité maximale évite la perturbation de l'acquisition par d'autres tâches système sous un système d'exploitation multitâches.
- 25 Les 6 images sont acquises successivement et en temps réel (pas d'image perdue) par la carte d'acquisition afin de minimiser le temps pendant lequel des vibrations peuvent affecter le résultat. Chaque image a pour dimension horizontale *hpix* et pour dimension verticale *vpix*. Pendant l'acquisition, les images sont transférées automatiquement par la carte d'acquisition dans le tableau qui leur est réservé en mémoire centrale de l'ordinateur. A l'issue de la procédure d'acquisition, on dispose
- 30 d'un tableau $I[a, b, i, j]$, l'indice a correspondant à la différence de phase, l'indice b correspondant à l'image (décalée ou non décalée en phase), les indices i et j étant les coordonnées en pixels et variant respectivement de 0 à *hpix*-1 et de 0 à *vpix*-1.

(601) calcul des deux représentations fréquentielles. Celles-ci sont stockées dans des tableaux de complexes $SO[i,j]$ et $SI[i,j]$, en appliquant les formules:

$$SO[i,j] = \frac{1}{6}(2I[0,0,i,j] - I[1,0,i,j] - I[2,0,i,j]) + j \frac{1}{2\sqrt{3}}(I[1,0,i,j] - I[2,0,i,j])$$

$$SI[i,j] = \frac{1}{6}(2I[0,1,i,j] - I[1,1,i,j] - I[2,1,i,j]) + j \frac{1}{2\sqrt{3}}(I[1,1,i,j] - I[2,1,i,j])$$

- 5 (602) Le programme modifie le tableau SI en multipliant chacun de ses éléments par $e^{-j\frac{\pi}{3}}$.
- (603): le programme calcule la valeur maximale $mod_max = \max_{\substack{0 \leq i \leq hpix-1 \\ 0 \leq j \leq vpix-1}} |SO[i,j]|$ du module

sur SO .

(604): Le programme calcule l'écart moyen entre les deux tableaux de la manière suivante:

- Le programme initialise $ecart$ et $nombre_valeurs$ à 0 et parcourt l'ensemble des points i,j en
- 10 testant la condition (605): $|SO[i,j]| \geq 0,5 mod_max$. Chaque fois que cette condition est réalisé, il effectue les opérations suivantes (606):

$$ecart += |SO[i,j] - SI[i,j]|$$

$$nombre_valeurs += 1$$

- Lorsque le programme a terminé de parcourir les indices (i,j) il divise $ecart$ par $nombre_valeurs$ (607),
- 15 ce qui lui donne l'écart moyen. Cet écart n'intègre donc que des valeurs pour lesquelles l'onde d'éclairage est suffisamment forte, afin d'éviter un résultat trop bruité. Il est stocké dans un tableau.

(608): le programme passe à la valeur suivante du couple $(diff_haut, diff_bas)$ et réitère les opérations jusqu'à ce que la série d'écarts ait été calculée.

- (609): le programme applique un filtre passe-bas au tableau obtenu pour limiter le bruit dû aux vibrations du système. Le filtre passe-bas utilisé est représenté dans le domaine fréquentiel par une
- 20 'marche d'escalier' passant d'une valeur de 1 en basse fréquences à une valeur de 0 en hautes fréquences, et sa bande passante est déterminée empiriquement pour avoir une bonne limitation du bruit sans trop déformer la courbe.

(610): le tableau est représenté graphiquement pour en vérifier l'allure.

- 25 (611): la valeur du couple $(diff_bas, diff_haut)$ correspondant au minima est affichée.

Les séries de valeurs du couple $(diff_bas, diff_haut)$ sont déterminées comme suit:

Dans un premier temps le programme fait varier les valeurs de $diff_haut$ et $diff_bas$ en les

laissant égales entre elles. Par exemple elles peuvent varier entre 0 et $\frac{Umax}{4}$ par pas de $\frac{Umax}{4096}$ si on

- utilise 12 bits de conversion. Il en résulte un tableau de 1024 éléments (les écarts calculés pour chaque
- 30 valeur de $(diff_haut, diff_bas)$) que le programme filtre pour éliminer le bruit (609) et qu'il représente graphiquement (610). La valeur d'indice du tableau correspondant à l'écart minimal correspond alors à la valeur correcte du couple $(diff_bas, diff_haut)$ et ce couple est affiché (611).

Dans un deuxième temps, le programme est relancé en fixant *diff_bas* à la valeur précédemment obtenue et en faisant varier uniquement *diff_haut*. Un nouveau minima est ainsi obtenu, qui correspond à une valeur plus précise de *diff_haut*.

Dans un troisième temps, le programme est relancé en fixant *diff_haut* à la valeur précédemment obtenue et en faisant varier uniquement *diff_bas*, obtenant une valeur plus précise de *diff_bas*.

L'opérateur peut réitérer ces étapes en faisant varier séparément et alternativement *diff_bas* et *diff_haut*, mais le maximum de précision sur ces valeurs est obtenu assez rapidement.

10 réglage du polariseur (105) et du rotateur de polarisation (104)

L'étape suivante consiste à régler la position du rotateur de polarisation (104) et du polariseur (105). Ce dispositif est destiné à réaliser une atténuation contrôlée du faisceau d'éclairage par commande du rotateur de phase, et on appellera l'ensemble 'commutateur optique'. Il a une position fermée correspondant à une intensité faible le traversant et une position ouverte correspondant à une intensité plus élevée.

L'objet utilisé est le même que dans l'étape précédente, le réglage du miroir (109) et des diaphragmes est également le même. L'onde de référence est d'abord supprimée. Dans un premier temps, le polariseur est mis en place et réglé pour maximiser l'intensité le traversant et reçue sur le capteur (118). Dans un deuxième temps, le rotateur de polarisation est mis en place. Une tension correspondant à un état arbitrairement défini comme fermé lui est appliquée et il est positionné en rotation pour minimiser l'intensité traversant l'ensemble du commutateur. Dans un troisième temps, l'onde de référence est rétablie et on utilise un programme calculant le rapport des intensités et la différence de phase entre les deux positions du rotateur de polarisation, rapport qui sera nécessaire pendant les phases d'acquisition d'image pour combiner les ondes correspondant aux états ouvert et fermé du commutateur. L'algorithme de ce programme est sur la figure 12. Les étapes sont les suivantes:

(800) : Le programme acquiert d'abord les images en utilisant la procédure *acquiert_images* décrite Fig. 13. Par 'les images' on entend ici 6 figures d'interférences reçues consécutivement par le capteur CCD. Cette procédure effectue toujours le même cycle commençant par la tension 0 et finissant par la tension *Umax*. Le temps d'attente après l'application d'une tension nulle au piézoélectrique permet à celui-ci de se stabiliser. Le temps d'attente avant le lancement de l'acquisition évite d'acquérir une trame qui aurait été exposée avant l'application des conditions d'exposition voulues. La fin de l'exposition d'une image est signalée sur les cartes d'acquisition par le début du transfert de l'image correspondante. L'utilisation d'un temps d'exposition inférieur au temps de transfert de l'image permet à l'image de ne pas être affectée par les états transitoires. La mise du processus en priorité maximale évite la perturbation de l'acquisition par d'autres tâches système sous un système d'exploitation multitâches. Les 6 images sont acquises successivement et en temps réel (pas d'image perdue) par la

carte d'acquisition afin de minimiser le temps pendant lequel des vibrations peuvent affecter le résultat. Chaque image a pour dimension horizontale $hpix$ et pour dimension verticale $vpix$. Pendant l'acquisition, les images sont transférées automatiquement par la carte d'acquisition dans le tableau qui leur est réservé en mémoire centrale de l'ordinateur.

- 5 (801): le programme calcule les deux représentations fréquentielles $S0$ et $S1$ qui diffèrent par l'état du commutateur. $S0$ correspond au commutateur ouvert et $S1$ au commutateur fermé.

$$S0[i, j] = \frac{1}{6} (2I[0,0,i, j] - I[1,0,i, j] - I[2,0,i, j]) + \tilde{j} \frac{1}{2\sqrt{3}} (I[1,0,i, j] - I[2,0,i, j])$$

$$S1[i, j] = \frac{1}{6} (2I[0,1,i, j] - I[1,1,i, j] - I[2,1,i, j]) + \tilde{j} \frac{1}{2\sqrt{3}} (I[1,1,i, j] - I[2,1,i, j])$$

(802): Le programme calcule la valeur maximale $mod_max = \max_{\substack{0 \leq i \leq hpix-1 \\ 0 \leq j \leq vpix-1}} |S0[i, j]|$ atteinte par

- 10 le module des éléments du tableau $S0$.

(803): le programme calcule le rapport moyen entre les deux représentations fréquentielles. Il initialise $rapport$ et $nombre_valeurs$ à 0 puis parcourt l'ensemble des indices (i, j) en testant la condition

(804): $|S0[i, j]| \geq 0,5 mod_max$

Lorsque la condition est vérifiée, il effectue (805):

15 $rapport += \frac{S0[i, j]}{S1[i, j]}$

$nombre_valeurs += 1$

Lorsque l'ensemble des indices i, j a été parcouru, le programme divise $rapport$ par $nombre_valeurs$

(806) ce qui donne le rapport recherché.

- (807) le programme calcule la moyenne $rapport_moy$ des valeurs de $rapport$ obtenues depuis son lancement.
- 20

(808): le programme affiche les parties réelles et imaginaires ainsi que le module de $rapport$ et $rapport_moy$.

(809) Le programme réitère continuellement cette procédure pour permettre le réglage en continu. Le programme se termine sur instruction de l'opérateur.

- 25 La position angulaire du rotateur de polarisation doit être réglée pour que le module de rapport soit à peu près égal à 8. Le programme est alors arrêté et relancé, et au bout d'un nombre d'itération suffisant la valeur moyenne complexe $rapport_moy$ est notée et servira de base dans la suite des opérations.

- 30 obtention de la constante K et réglage du diaphragme (114) et du miroir (116)

K est la valeur maximale en pixels correspondant à la fréquence spatiale maximale de l'onde $\frac{1}{\lambda}$ ou λ est la longueur d'onde dans le milieu observé. Il y a K pixels entre les fréquences 0 et $\frac{1}{\lambda}$. Le

pas en fréquence suivant un axe est donc $\frac{1}{K\lambda}$. Les fréquences varient au total de $-\frac{1}{\lambda}$ à $\frac{1}{\lambda}$ par pas de $\frac{1}{K\lambda}$.

- Si N est le nombre total de pixels suivant chaque axe pris en compte pour la transformée de Fourier, N valeurs de fréquences sont prises en comptes, allant de $-\frac{N}{2K\lambda}$ à $\frac{N}{2K\lambda}$.

Après transformation on obtient N valeurs de position avec un pas en position égal à la moitié de l'inverse de la fréquence maximale avant transformation.

$$\text{Le pas en position est donc } \frac{1}{2 \cdot \frac{N}{2K\lambda}} = \frac{K\lambda}{N}$$

- Si on considère deux points entre lesquels la distance en pixels est D_{pix} et la distance réelle est D_{reel} , on a donc: $D_{reel} = \frac{K\lambda}{N} D_{pix}$ d'où $K = \frac{N}{\lambda} \frac{D_{reel}}{D_{pix}}$. La longueur d'onde à considérer ici est la longueur d'onde dans le matériau soit si n est l'indice du matériau et λ_v la longueur d'onde du laser dans le vide: $\lambda = \frac{\lambda_v}{n}$. On a finalement:

$$K = \frac{n}{\lambda_v} \frac{N}{D_{pix}} D_{reel}$$

- Pour obtenir la constante K , on réalise l'image d'un micromètre objectif pour lequel les distances réelles sont connues, puis on applique la formule ci-dessus.

Ceci est réalisé en utilisant un programme de focalisation qui sera réutilisé ultérieurement à chaque fois qu'une focalisation sur un échantillon est nécessaire avant la prise d'image tridimensionnelle. L'algorithme de ce programme se trouve sur la figure 14. Ses étapes principales sont:

- (1000): Le programme acquiert une image par la procédure *acquier_images* de la Fig. 13. On obtient donc un tableau d'entiers (type unsigned char pour 8 bits) $I[p, c, i, j]$ où l'indice p variant de 0 à 2 correspond à l'état de phase, l'indice c variant de 0 à 1 correspond à l'état du commutateur (0=ouvert, 1=fermé) et les indices i et j variant de 0 à $hpix-1$ et de 0 à $vpix-1$ correspondent aux coordonnées du pixel.

- (1001): Un tableau de booléens $H[i, j]$ est généré: il est initialisé à 0, puis pour chaque pixel, la valeur maximale atteinte sur les trois images correspondant à la position ouverte du commutateur est calculée. Si cette valeur est égale à 255 (valeur la plus élevée du numériseur), les images correspondant à la position fermée du commutateur doivent être utilisées dans le calcul de la fréquence associée au pixel et à ses 8 voisins immédiats, et le tableau $H[i, j]$ est mis à 1 pour ces 9 pixels.

- (1002): la représentation fréquentielle $S[i, j]$ de nombres complexes est générée: pour chaque pixel, la valeur est générée selon les équations suivantes:

$$S[i, j] = \left[\frac{1}{6} \left(2I[0, H[i, j], i, j] - I[1, H[i, j], i, j] - I[2, H[i, j], i, j] \right) \right]$$

$$+j \frac{1}{2\sqrt{3}} \left(I[1, H[i, j], i, j] - I[2, H[i, j], i, j] \right) \left(1 + (\text{rapport_moy} - 1) H[i, j] \right)$$

Si $H[i, j]$ vaut 1, la valeur complexe ainsi obtenue est donc multipliée par le nombre complexe rapport_moy obtenu lors de l'opération de calibration du commutateur pour donner la valeur finale de l'élément de tableau $S[i, j]$, afin de tenir compte du décalage de phase et de l'absorption induits par le commutateur.

(1003): Le programme limite le tableau S à des dimensions de 512x512. Le programme effectue ensuite optionnellement l'une ou l'autre, ou aucune, des deux opérations suivantes:

- un moyennage sur une largeur de 2, qui ramène le tableau S à un tableau S' de dimensions 256x256 avec $S'[i, j] = S[2i, 2j] + S[2i + 1, 2j] + S[2i, 2j + 1] + S[2i + 1, 2j + 1]$. Ce moyennage, couplé à une

réduction de l'ouverture du diaphragme (114), permet de diminuer le diamètre de la zone observée et de réduire le temps de calcul. Il est équivalent à un filtrage passe-bas suivi d'un sous-échantillonnage.

- une limitation de l'ensemble des fréquences observées à un carré de 256x256 pixels avec

$S'[i, j] = S[128 + i, 128 + j]$. Ceci permet de diminuer le temps de calcul au prix d'une réduction de la résolution.

Toutefois dans le cas présent le programme n'effectue aucune de ces deux opérations.

(1004): Le programme effectue alors la transformée de Fourier inverse du tableau ainsi obtenu.

(1005): Il affiche le résultat sur l'écran, en extrayant le module, la partie réelle ou la partie imaginaire. Dans le cas présent il affichera le module. Quelle que soit la variable affichée, le tableau de nombres réels correspondant est d'abord normalisé, soit par rapport à la valeur moyenne, soit par rapport

à la valeur maximale. Le programme écrit également sur disque le fichier de réels correspondant.

Lorsque la partie réelle ou la partie imaginaire sont représentées, il est essentiel que le point d'impact du faisceau direct soit bien en (256, 256) sur l'image de taille 512 x 512, faute de quoi une modulation devient visible. Lorsque le module est représenté, le point d'impact exact du faisceau direct n'influence pas notablement le résultat.

(1006): Le programme recommence alors l'acquisition d'une nouvelle image, opérant donc en continu. Il s'arrête sur instruction de l'opérateur.

Pour obtenir l'image du micromètre, l'objectif est d'abord mis en position à peu près focalisé, le micromètre ayant été introduit comme objet. Dans un premier temps l'onde de référence est

supprimée, les diaphragmes sont ouverts au maximum, et le programme de visualisation directe en

temps réel de l'image reçue sur le capteur est lancé, les filtres en (103) et le rotateur de polarisation étant réglés pour laisser passer suffisamment d'intensité pour saturer assez largement le capteur au

point d'impact direct du faisceau. L'objet est alors déplacé à dans le plan horizontal à l'aide du positionneur correspondant jusqu'à ce que l'image constituée de nombreux points intenses alignés,

caractéristique du micromètre, apparaisse. Le micromètre est alors correctement positionné sous

l'objectif.

Les diaphragmes en (107) et (114) sont alors réglés pour une ouverture d'environ 8 mm. Les filtres en (103) sont alors réglés pour que le maximum d'intensité sur le CCD soit à un niveau d'environ le quart de la valeur maximale du digitaliseur, soit $256/4=64$. L'onde de référence est réintroduite. Le programme de focalisation est alors lancé. Le diaphragme (114) doit être ajusté de manière à être clairement visible sur l'image affichée, tout en étant aussi ouvert que possible. Si l'image n'est pas bien centrée, on peut améliorer le centrage soit en modifiant l'orientation du miroir (116), auquel cas il peut être nécessaire de réajuster l'orientation du miroir (121), soit en modifiant la position du diaphragme (114). Le diaphragme en (107) doit être ajusté pour que la zone observée apparaisse uniformément éclairé. Le programme de focalisation est alors arrêté, l'onde de référence est supprimée et l'intensité du faisceau est réajustée comme précédemment. L'onde de référence est alors réintroduite et le programme de focalisation relancé.

L'objectif de microscope est alors déplacé par le dispositif de focalisation de manière à obtenir une bonne image du micromètre. Pour faciliter la focalisation, on a intérêt à visualiser une partie du micromètre ou des traits de différentes longueurs sont présents. Ceci limite les 'fausses focalisations' dues à des phénomènes d'interférences en avant du micromètre. Entre deux déplacements il est nécessaire de lâcher le dispositif de focalisation manuel pour obtenir une image non perturbée par les vibrations. Lorsque une bonne image a été obtenue, le programme est arrêté et l'image obtenue est utilisée pour obtenir la distance en nombre de pixels entre deux traits, la distance métrique entre ces traits étant connue. Si la distance entre deux graduations séparées par D_{reel} micromètres est sur l'image ainsi obtenue de D_{pix} pixels, si l'indice moyen dans l'échantillon est n (en général, $n=1,5$) et si la longueur d'onde du laser dans le vide est λ_v ($\lambda_v=0,633$ micromètres) et si le nombre de points de la transformée de Fourier est N ($N=512$) alors on a: $K = \frac{n}{\lambda_v} \frac{N}{D_{pix}} D_{reel}$, ou bien entendu D_{reel} et λ_v sont dans la même unité.

25 réglage des diaphragmes

L'image tridimensionnelle que l'on calculera a un coté de taille 256 pixels, ce qui permet de limiter les tailles de fichiers et les temps de calcul. Le réglage du diaphragme consiste à réutiliser le programme de focalisation, cette fois avec l'option de moyennage intermédiaire, et régler le diaphragme (114) de manière à ce que son image soit clairement visible tout en étant aussi grande que possible. Le diaphragme (107) est alors réglé pour qu'il soit légèrement plus ouvert que le minimum permettant un éclairage régulier de la partie observée de l'échantillon.

ajustement de la position du condenseur, obtention des caractéristiques du cercle

Lors de la procédure d'acquisition, l'extrémité du vecteur fréquence d'éclairage doit suivre un cercle (504), ce qui équivaut à ce que le point d'impact du faisceau d'éclairage sur le capteur suive un

cercle correspondant. On appelle ici point d'impact du faisceau d'éclairage le point illuminé sur le capteur (118) lorsque seul le faisceau d'éclairage est présent (lame transparente), et qui reste le point d'intensité maximale lorsque un échantillon susceptible d'être utilisé par ce microscope est présent. Pour une position donnée du condenseur (111) et de l'objectif de microscope (113), le rayon du cercle ne peut pas en général être choisi librement: ceci est une conséquence des fortes aberrations induites par le condenseur pour les rayons non paraxiaux. Par ailleurs, si la position du condenseur est mal réglée transversalement, le faisceau d'éclairage sort de la zone observée de l'objet et est intercepté par le diaphragme (114), et le cercle ne peut pas être parcouru. Si elle est mal réglée dans le sens de l'axe optique, les caractéristiques du cercle ne sont pas optimales. Il est donc nécessaire d'ajuster la position du condenseur et de calculer les caractéristiques du cercle. C'est ce que permet le programme dont l'algorithme est détaillé sur la Fig. 15. Le principe de ce programme est de déplacer le point éclairé par le faisceau direct (point d'impact du faisceau d'éclairage) le long de rayons concentriques partant du centre du capteur et d'afficher les valeurs d'éclairement en chaque point éclairé successivement par le faisceau direct, ce qui forme à l'écran une figure en 'étoile' représentée schématiquement sur la Fig. 16. La position du condenseur peut alors être réglée pour que cette étoile soit la plus régulière et large possible, et le programme détermine les caractéristiques des cercles (centre commun G et rayons respectifs R_p et R_q) délimitant la partie extérieure de l'étoile, qui permettent d'obtenir le cercle sur lequel se déplacera le point d'impact direct du faisceau d'éclairage lors de la procédure d'acquisition. Avant de lancer ce programme, l'onde de référence doit être supprimée. Le miroir (109) doit être déplacé de façon à ce que le point d'impact direct du faisceau soit au centre de l'image. Les filtres en (103) doivent être ajustés pour éviter la saturation du capteur et devront être réajustés pendant le fonctionnement du programme pour éviter la saturation sur l'ensemble de l'étoile. Les étapes principales de ce programme sont:

(1100): le programme calcule les valeurs du rayon, indicé par k , et de l'angle, indicé par l , puis les coordonnées du point 'objectif'. Les coordonnées x, y de ce point sont exprimées en pas de moteur (et non en pixels). x représente le nombre de pas effectués par le moteur (213) depuis sa position initiale (point éclairé au centre de l'image). y représente le nombre de pas effectués par le moteur (208) depuis sa position initiale. Le pas du déplacement le long d'un rayon, pas_rayon , doit être réglé pour que les points de l'étoile soient suffisamment proches les uns des autres, et l'incrément angulaire pas_angle

vaut $\frac{2\pi}{l_max}$. l_max vaut par exemple 16, k_max est ajusté pour que le point éclairé pour l'indice

k_max sorte du domaine ou il est visible.

(1101): Le programme déplace le moteur vers le point objectif

(1102): le point qui avait été affiché sur l'écran à l'étape précédente pour les mêmes indices k, l est effacé. Les coordonnées de ce point étaient rangées dans le tableau V en $V[k, l]$

(1103): une image est acquise depuis le capteur. Il s'agit là d'une acquisition simple, la valeur de chaque pixel étant lue directement sur le capteur.

(1104): le maximum d'éclairement sur l'image acquise est calculé et enregistré, ses coordonnées en pixels sont enregistrées dans le tableau V contenant des couples d'entiers, en $V[k, l]$, et sa valeur est enregistrée dans le tableau W contenant des réels, en $W[k, l]$. Le point correspondant au maximum d'éclairement est affiché sur l'écran (l'étoile est formée progressivement par ces points).

5 (1105): Le programme détermine la valeur maximale

$vmax = \max_{k_min \leq p \leq k_max} (W[p, l])$ atteinte sur la partie $k \geq k_min$ du rayon. La valeur k_min est une

constante choisie de manière à ce que la partie centrale intense de l'étoile ne soit pas prise en compte.

Le programme détermine ensuite les entiers:

$$kp = \max \{ p \in [k_min, k_max] \mid W[p, l] \geq vmax.vcoef \}$$

10 $kq = \min \{ p \in [k_min, k_max] \mid W[p, l] \geq vmax.vcoef \}$

ou $vcoef=0,5$ par exemple. Il enregistre alors les coordonnées des points correspondants dans des tableaux P et Q :

$$P[l] = V[kp, l]$$

$$Q[l] = V[kq, l]$$

15 Le programme affiche les valeurs de l et de $vmax$ dans une fenêtre de texte.

(1106): Le programme calcule une approximation du centre du cercle et la range dans $C[l]$.

$C[l]$ est calculé comme l'intersection de la médiatrice de $P[l]$ et $P[l+l_max/2]$ avec la médiatrice de $P[l+l_max/4]$ et $P[l+l_max/4+l_max/2]$. La Fig. 17 illustre le principe de calcul sur l'exemple $l_max=8$, pour le point $C[0]$. Le point $C[0]$ est l'intersection de deux droites dont l'une est la médiatrice du

20 segment $P[0] P[4]$ et l'autre est la médiatrice du segment $P[2] P[6]$.

(1107): Le programme calcule le centre G du cercle comme barycentre des points $C[l]$. Les coordonnées de G seront notées G_x, G_y .

(1108): Il calcule le rayon R_p du cercle extérieur comme valeur moyenne de la distance entre G et les points $P[l]$, et le rayon R_q du cercle intérieur comme valeur moyenne de la distance entre G et

25 les points $Q[l]$.

(1109): Il affiche G_x, G_y, R_p, R_q dans la fenêtre de texte.

(1110): Il recommence l'ensemble de l'opération. Le programme s'arrête sur demande de l'opérateur.

30 Pour cette opération de réglage, le micromètre doit être légèrement déplacé de manière à être hors du champ d'observation, l'objet étant alors équivalent à une lame transparente. L'objectif doit être maintenu en position focalisée. Dans un premier temps, le programme est utilisé pour affiner le positionnement du condenseur. Celui-ci doit être positionné transversalement de manière à ce que les points affichés forment une 'étoile' dont les branches ont toutes une largeur (notée L sur la Fig. 16) et une luminosité proche, c'est-à-dire que les valeurs des maximums affichés dans l'étape (1105) doivent

être proches pour toutes les branches. Il doit être positionné dans la direction de l'axe optique de manière à ce que le rayon R_p du cercle externe soit aussi élevé que possible et à ce que sur chaque branche de l'étoile, la zone extérieure correspondant à des intensités élevées garde une largeur suffisante (par exemple supérieure à 10 pixels), notée L sur la Fig. 16. Plus cette zone est étroite plus le programme d'acquisition d'image, qui utilise les coordonnées obtenues pour le cercle, risque de diverger en essayant de parcourir ce cercle. Pour cette première étape, il suffit d'assez peu d'angles φ , par exemple 8. Eventuellement l'ouverture du diaphragme (107) peut être augmentée, ce qui permet d'augmenter la largeur L . Dans un second temps, le nombre d'angles pris en compte est plus élevé afin d'obtenir des valeurs précises de G_x, G_y, R_p, R_q . Le point G est le centre du cercle qui sera parcouru lors de l'étape d'acquisition par le point d'impact direct du faisceau d'éclairage. Le rayon R de ce cercle est déterminé à partir des rayons R_p et R_q . Si $L = R_p - R_q$ est faible (inférieure à 20 pixels par exemple), on prend $R = \frac{R_p + R_q}{2}$. Si L est plus élevée, on peut prendre une valeur légèrement inférieure à R_p , par exemple $R = R_p - 10$. Si le condenseur est utilisé à une ouverture suffisamment inférieure à son ouverture maximale, la partie externe de l'étoile rejoint le centre, la largeur L va donc jusqu'au centre, et on peut là aussi utiliser $R = R_p - 10$.

enregistrement de l'onde de référence

La connaissance de l'onde de référence est indispensable au calcul précis des valeurs complexes de l'onde parvenant au capteur. Celle-ci doit donc être enregistrée indépendamment de la valeur constante de bruit moyen qui caractérise chaque pixel. A cet effet un programme spécifique est utilisé. Dans un premier temps, les ondes d'éclairage et de référence sont supprimées et le programme enregistre l'image de 'noir optique' qui en résulte sur le capteur CCD. Il moyenne l'intensité obtenue sur 100 images pour avoir un noir optique débruité. Dans un deuxième temps l'onde de référence est rétablie et l'onde d'éclairage reste supprimée. Le programme enregistre l'image résultante, la moyenne sur 100 images pour débruiter. Puis le programme calcule la différence entre l'image de l'onde de référence seule et l'image de noir optique, et enregistre l'image résultante dans un tableau $Iref[i,j]$ où i varie de 0 à $hpix-1$ et j varie de 0 à $vpix-1$.

Focalisation sur l'objet étudié

Cette étape doit être répétée pour chaque échantillon dont on souhaite obtenir une image. L'onde d'éclairage est rétablie. L'échantillon à étudier est mis en place. Le miroir (109) est réglé pour que le point d'impact direct du faisceau d'éclairage soit au centre du capteur. Les filtres en (103) sont réglés pour qu'en l'absence d'onde de référence l'intensité maximale reçue sur le capteur CCD soit d'environ 64. L'onde de référence est alors rétablie. Le programme de focalisation est lancé avec

l'option de moyennage intermédiaire, et la position de l'objectif est ajustée à l'aide du dispositif de focalisation pour obtenir une image nette de la zone d'intérêt de l'échantillon.

Ajustement du rayon R

- 5 Après la phase de focalisation la phase d'ajustement du condenseur doit être répétée, sans modifier la position de l'objectif et en laissant en place l'échantillon, et en utilisant la position fermée du commutateur optique. La position du condenseur n'est pas nécessairement modifiée mais la nouvelle valeur de R est notée et les filtres en (103) doivent être ajustée de manière à ce que l'intensité maximale reçue sur chaque rayon (affichée dans l'étape (1104) de l'algorithme du programme de focalisation) soit
- 10 d'environ le quart de la valeur maximale du digitaliseur, soit 64. L'onde de référence, qui doit être supprimée pendant cette étape, est rétablie pour l'étape d'acquisition.

étape d'acquisition

- Cette étape permet d'acquérir les représentations fréquentielles bidimensionnelles à partir
- 15 desquelles sera calculée la représentation tridimensionnelle. Le point d'impact direct du faisceau d'éclairage est déplacé suivant un cercle de centre G et de rayon R déterminés dans l'étape de réglage qui précède. Le pas angulaire pas est de $\frac{2\pi}{nbim}$ ou $nbim$ est le nombre de représentations fréquentielles bidimensionnelles à acquérir et a pour valeur la partie entière de $2\pi R$. A chaque étape, le programme calcule et enregistre dans un fichier *fich_acquis* une représentation fréquentielle qui sera utilisée dans la
- 20 phase de calcul tridimensionnel. La taille de l'image acquise depuis la caméra est $hpix \times vpix$, mais cette taille est divisée par deux pour obtenir des représentations fréquentielles de dimension $hel \times vel$, selon le principe de moyennage intermédiaire déjà utilisé dans le programme de focalisation.

Le programme d'acquisition est détaillée par l'algorithme de la Fig. 18 dont les étapes sont les suivantes:

- 25 (1300): Les données de base de l'acquisition sont enregistrées dans le fichier *fich_acquis*:
 $nbim$: nombre de représentations fréquentielles bidimensionnelles
 $hel = hpix / 2$: nombre final de points dans le sens horizontal
 $vel = vpix / 2$: nombre final de points dans le sens vertical
- (1301): temps d'attente permettant l'absorption des vibrations créées par le mouvement du
- 30 positionneur (110). Un temps d'attente de 2s environ peut convenir.
- (1302): Le programme acquiert les images par la procédure *acquiert_images* de la Fig. 13. On obtient donc un tableau d'entiers (type unsigned char pour 8 bits) $I[p, c, i, j]$ ou l'indice p variant de 0 à 2 correspond à l'état de phase, l'indice c variant de 0 à 1 correspond à l'état du commutateur (0=ouvert, 1=fermé) et les indices i et j variant respectivement de 0 à $hpix-1$ et de 0 à $vpix-1$
- 35 correspondent aux coordonnées du pixel.

(1303): Un tableau de booléens $H[i, j]$ est généré: il est initialisé à 0, puis pour chaque pixel, la valeur maximale atteinte sur les trois images correspondant à la position ouverte du commutateur est calculée. Si cette valeur est égale à 255 (valeur la plus élevée du numériseur), les images correspondant à la position fermée du commutateur doivent être utilisées dans le calcul de la fréquence associée au pixel et à ses 8 voisins immédiats, et le tableau H est mis à 1 pour ces 9 pixels.

(1304): la représentation fréquentielle $S[i, j]$ de nombres complexes est générée: pour chaque pixel, la valeur est générée selon les équations suivantes:

$$S[i, j] = \left[\frac{1}{6\sqrt{I_{ref}[i, j]}} (2I[0, H[i, j], i, j] - I[1, H[i, j], i, j] - I[2, H[i, j], i, j]) \right. \\ \left. + j \frac{1}{2\sqrt{3I_{ref}[i, j]}} (I[1, H[i, j], i, j] - I[2, H[i, j], i, j]) \right] (1 + (rapport_moy - 1)H[i, j])$$

- 10 Si $H[i, j]$ vaut 1, la valeur complexe ainsi obtenue est donc multipliée par le nombre complexe $rapport_moy$ obtenu lors de l'opération de calibration du commutateur pour donner la valeur finale de l'élément de tableau $S[i, j]$, afin de tenir compte du décalage de phase et de l'absorption induites par le commutateur.

- (1305)-Le point de module maximal du tableau S est déterminé. Ses coordonnées (i_max , j_max) sont enregistrées.

(1306) La position 'objectif' est calculée, l'angle valant $k.pas$:

$$i_obj = G_x + R \cos(k.pas)$$

$$j_obj = G_y + R \sin(k.pas)$$

ou i_obj et j_obj sont les coordonnées de la position objectif en pixels.

- 20 Le déplacement des moteurs est calculé:

$$pas_i = (i_obj - i_max).pas_par_pixel$$

$$pas_j = (j_obj - j_max).pas_par_pixel$$

ou pas_par_pixel est le nombre de pas des moteurs par pixel de déplacement, déterminé expérimentalement pendant les réglages.

- 25 (1307)- Un des moteurs permet de déplacer le point d'impact direct du faisceau dans la direction de l'axe i . Il doit effectuer un nombre de pas pas_i dans la direction correspondant à un indice i croissant pour la position du point d'impact direct du faisceau d'éclairage (pour $pas_i < 0$, il doit effectuer un nombre de pas $-pas_i$ dans la direction opposée). L'autre moteur permet de déplacer le point d'impact direct du faisceau dans la direction de l'axe j . De même, il doit effectuer un nombre de pas pas_j .

(1308)- Un tableau de fréquences moyennées est généré:

Chaque dimension du tableau initial S est divisée par deux pour donner un tableau M_k avec

$$M_k[i, j] = \sum_{\substack{0 \leq p \leq 1 \\ 0 \leq q \leq 1}} S[2i + p, 2j + q]$$

(1309)-Le point de module maximal du tableau M_k est déterminé, ses coordonnées $imax_k$,

$jmax_k$ et sa valeur $max_moy = M_k[imax_k, jmax_k] = \max_{\substack{0 \leq i \leq hel-1 \\ 0 \leq j \leq vel-1}} (M_k[i, j])$ sont enregistrées.

(1310)-Les éléments du tableau M_k sont normalisés en les divisant par max_moy .

$$5 \quad M_k[i, j] = \frac{M_k[i, j]}{max_moy}$$

(1311)- $imax_k$, $jmax_k$ et la représentation fréquentielle M_k sont enregistrés dans le fichier *fich_acquis*.

(1312)- L'algorithme se termine quand l'angle vaut 2π . Le moteur revient alors à sa position initiale et le fichier d'acquisition *fich_acquis* est fermé.

10

calcul tridimensionnel

La procédure d'acquisition a généré des représentations fréquentielles bidimensionnelles M_k , où l'indice k représente le numéro d'ordre de chaque représentation. Ces représentations ayant été moyennées sur une largeur de 2, les valeurs de C_x , C_y et K doivent être divisées par 2 pour

15 correspondre au nouveau système de coordonnées. Ce sont ces valeurs divisées qui sont utilisées dans la suite. L'ensemble des représentations bidimensionnelles peut être considéré une représentation à trois dimensions (i, j, k) dans lequel l'indice k représente l'indice image et les indices i et j représentent les coordonnées cartésiennes de chaque représentation. Dans la k -ième représentation fréquentielle bidimensionnelle:

20 la relation entre les coordonnées et la fréquence caractéristique est:

$$K\mathcal{F}_c = \left(i - C_x, j - C_y, \sqrt{K^2 - (i - C_x)^2 - (j - C_y)^2} \right)$$

La relation entre les coordonnées et la fréquence d'éclairage est:

$$K\mathcal{F}_e = \left(imax_k - C_x, jmax_k - C_y, \sqrt{K^2 - (imax_k - C_x)^2 - (jmax_k - C_y)^2} \right)$$

La relation entre les coordonnées et la fréquence totale est donc:

$$25 \quad K\mathcal{F}_t = \left(i - imax_k, j - jmax_k, \sqrt{K^2 - (i - C_x)^2 - (j - C_y)^2} - \sqrt{K^2 - (imax_k - C_x)^2 - (jmax_k - C_y)^2} \right)$$

La procédure de calcul tridimensionnel consiste en principe à générer dans un premier temps une représentation tridimensionnelle sous forme d'un tableau F de dimensions $fdim \times fdim \times fdim$ avec $fdim=256$, puis à en effectuer la transformée de Fourier pour obtenir un tableau U de mêmes

dimensions correspondant à la représentation $u(r)$, et dans lequel les indices correspondent donc au rayon-vecteur. La représentation F est un tableau dont les indices représentent les coordonnées de $K\lambda_f$, le zéro étant ramené par translation au point de coordonnées $(fdim/2, fdim/2, fdim/2)$. On obtient donc, à partir de chaque point de coordonnées i, j d'une représentation bidimensionnelle M_k , un point

5 de la représentation tridimensionnelle par:

$$F[ni, nj, nk] = M_k[i, j]$$

avec:

$$ni = i - imax_k + \frac{fdim}{2}$$

$$nj = j - jmax_k + \frac{fdim}{2}$$

$$10 \quad nk = \sqrt{K^2 - (i - C_x)^2 - (j - C_y)^2} - \sqrt{K^2 - (imax_k - C_x)^2 - (jmax_k - C_y)^2} + \frac{fdim}{2}$$

Lorsque un point du tableau F , de coordonnées (ni, nj, nk) , est obtenu successivement à partir de plusieurs représentations bidimensionnelles distinctes, la valeur de F retenue en ce point est la moyenne des valeurs obtenues à partir de chacune de ces représentations bidimensionnelles. Lorsque ce point n'est jamais obtenu, on y affecte une valeur nulle. On peut également retenir comme valeur de F la

15 somme des valeurs obtenues: ceci équivaut à l'approche citée dans la description de l'invention et consistant à moyenner sur l'ensemble des représentations bidimensionnelles y compris celles ayant une valeur nulle au point considéré. Ce n'est toutefois pas cette solution qui est retenue ici.

Lorsque le tableau F a été généré, le tableau U peut être obtenu par transformée de Fourier tridimensionnelle inverse. Pour des raisons pratiques, une partie de la transformation de Fourier sera

20 effectuée au fur et à mesure de la génération du tableau F , qui ne sera donc jamais véritablement généré.

L'algorithme du programme de calcul est décrit Fig.19. Le programme opère en cinq étapes. Chaque étape utilise un fichier d'entrée stocké sur le disque dur de l'ordinateur et génère un fichier de sortie également stocké sur le disque dur, dont le nom est en italique sur la figure. Le programme

25 pourrait théoriquement effectuer de manière plus directe les opérations nécessaires à la génération de l'image tridimensionnelle, mais la taille des fichiers impliqués est trop élevée pour qu'ils puissent être entièrement contenus dans la mémoire d'un ordinateur. Il est donc nécessaire de gérer leur stockage sur disque. La lecture/écriture d'éléments de fichiers sur disque se faisant plus rapidement si les éléments sont stockés de manière contigue, le programme doit être conçu pour ne lire et écrire sur le disque que

30 des blocs d'une taille suffisante. C'est ce que permet l'algorithme décrit, alors qu'une méthode directe nécessiterait des lectures/écritures à des adresses non contigues et ne serait pas praticable en raison du temps perdu en accès disque. Les étapes de l'algorithme sont les suivantes:

(1400)-centrage des représentations fréquentielles bidimensionnelles:

Cette procédure consiste à traduire les représentations bidimensionnelles pour passer d'une représentation dans le système de coordonnées (i,j,k) à une représentation dans le système (ni,nj,k) avec $ni=i-imax+fdim/2, nj=j-jmax+fdim/2$, les dimensions suivant ni et nj du tableau ainsi généré étant de $fdim \times fdim$. L'algorithme de cette partie est représenté figure 21. Les étapes sont les suivantes:

- 5 (1600): les valeurs de $hel, vel, nbim$ sont lues dans le fichier *fich_acquis*.
 (1601): la représentation fréquentielle M_k correspondant à l'indice k est transférée en mémoire centrale avec les valeurs correspondantes $imax_k$ et $jmax_k$.
 (1602): Une représentation fréquentielle traduite T_k de dimensions $fdim \times fdim$ est générée avec:
 10 $T_k[ni, nj] = M_k[ni - fdim/2 + imax_k, nj - fdim/2 + jmax_k]$
 lorsque $0 \leq ni - fdim/2 + imax_k \leq hel - 1$ et $0 \leq nj - fdim/2 + jmax_k \leq hel - 1$.
 $T_k[ni, nj] = 0$ dans les autres cas

La Fig. (20) montre une image d'origine avec son point de coordonnées $(imax_k, jmax_k)$ et un dessin arbitraire autour de ce point, et la nouvelle image traduite.

- 15 (1603): Les valeurs de $imax_k, jmax_k$, et la représentation T_k sont enregistrées dans le fichier *fich_centre* dans l'ordre suivant:
 $imax_k, jmax_k, T_k[0,0], T_k[1,0], \dots, T_k[fdim-1,0],$
 $imax_k, jmax_k, T_k[0,1], T_k[1,1], \dots, T_k[fdim-1,1],$

 20 $imax_k, jmax_k, T_k[0, fdim], T_k[1, fdim], \dots, T_k[fdim-1, fdim-1],$

Notons que $imax_k$ et $jmax_k$ sont répétés à chaque ligne de T_k dans le fichier *fich_centre*. Ceci permet que ces données, indispensables au changement d'indice $k \rightarrow nk$, restent disponibles après l'opération d'échange des axes.

- (1604): le processus est recommencé tant que k est inférieur à $nbim$.
 25 (1401)-Echange des axes 'plan' et 'ligne'
 Le changement d'indices $i \rightarrow ni$ et $j \rightarrow nj$ ayant été effectué, il reste à faire le changement d'indice $k \rightarrow nk$. Pour effectuer ce changement d'indice en un temps raisonnable il est nécessaire de pouvoir charger en mémoire centrale, rapidement, un plan (ni,k) . Pour que cette opération soit possible, il faut préalablement échanger les axes k et nj . C'est ce que fait cet algorithme.
 30 Le fichier *fich_centre* précédemment créé est relu, l'ordre des données est modifié et un fichier *fich_ech1* est écrit dans lequel les données sont dans l'ordre suivant:

$imax_0, jmax_0, T_0[0,0], T_0[1,0], \dots, T_0[fdim-1,0],$
 $imax_1, jmax_1, T_1[0,0], T_1[1,0], \dots, T_1[fdim-1,0],$

$imax_{nbim-1}, jmax_{nbim-1}, T_{nbim-1}[0,0], T_{nbim-1}[1,0], \dots, T_{nbim-1}[fdim-1,0],$

$imax_0, jmax_0, T_0[0,1], T_0[1,1], \dots, T_0[fdim-1,1],$

$imax_1, jmax_1, T_1[0,1], T_1[1,1], \dots, T_1[fdim-1,1],$

....

5 $imax_{nbim-1}, jmax_{nbim-1}, T_{nbim-1}[0,1], T_{nbim-1}[1,1], \dots, T_{nbim-1}[fdim-1,1],$

.....

.....

$imax_0, jmax_0, T_0[0, fdim-1], T_0[1, fdim-1], \dots, T_0[fdim-1, fdim-1],$

$imax_1, jmax_1, T_1[0, fdim-1], T_1[1, fdim-1], \dots, T_1[fdim-1, fdim-1],$

10

$imax_{nbim-1}, jmax_{nbim-1}, T_{nbim-1}[0, fdim-1], T_{nbim-1}[1, fdim-1], \dots, T_{nbim-1}[fdim-1, fdim-1]$

C'est-à-dire que les axes n_j et k sont échangés. Cette opération d'échange des axes est effectuée bloc par bloc. La Fig. (22) représente symboliquement (1700) le contenu d'un fichier tridimensionnel

correspondant à des indices i, j, k , rangé en mémoire plan horizontal par plan horizontal et chaque plan

15 étant rangé ligne par ligne, une ligne étant dans le sens de la profondeur sur le dessin. Les axes i, j, k et l'origine O du repère sont précisés sur le dessin. Le contenu du fichier obtenu par inversion des axes j et k est représenté en (1702). Le transfert des données d'un fichier à l'autre se fait bloc par bloc, le bloc

(1701) étant copié en mémoire centrale puis transféré en (1703). La lecture et l'écriture des blocs se fait

20 plan horizontal par plan horizontal, un plan horizontal dans le fichier lu ne correspondant pas à un plan horizontal dans le fichier écrit. La taille du bloc est la taille maximum qui puisse tenir dans la mémoire interne disponible de l'ordinateur. L'opération est répétée pour tous les blocs, les blocs situés 'au bord' n'ayant pas en général la même dimension que les autres. Cette manière d'opérer permet d'effectuer l'échange des axes avec un ordinateur dont la mémoire interne a une taille inférieure à celle des fichiers utilisés.

25 La procédure en langage C (Microsoft C/C++ sous Windows 95) qui permet cette opération est la suivante:

```
-----
void echange_axes(FILE* read_file, FILE* write_file, int ktot, int jtot, int itot, int memory_limit)
{
30 int knum, jnum, bknum, bjnum, keff, jeff, kj, bk, bj;
char* buff;

    knum=(int)sqrt(((double)memory_limit)/((double)itot));
    jnum=knum;
35 buff=(char*)malloc(itot*knnum*jnum);
    bknum=ktot/knum;
    if (knnum*bknum!=ktot) bknum+=1;
    bjnum=jtot/jnum;
    if (jnum*bjnum!=jtot) bjnum+=1;
```

```

for (bk=0;bk<=bknum-1;bk++)
for (bj=0;bj<=bjnum-1;bj++)
{
5      if (bk==(bknum-1)) keff=ktot-knum*(bknum-1); else keff=knum;
      if (bj==(bjnum-1)) jeff=jtot-jnum*(bjnum-1); else jeff=jnum;

      for (k=0;k<=keff-1;k++)
      for (j=0;j<=jeff-1;j++)
10     {
          fscek(read_file,(bk*knum+k)*jtot*itot+(bj*jnum+j)*itot,SEEK_SET);
          fread(buff+k*jeff*itot+j*itot, 1, itot, read_file);
      }

15     for (j=0;j<=jeff-1;j++)
        for (k=0;k<=keff-1;k++)
        {
            fseek(write_file,(bj*jnum+j)*ktot*itot+(bk*knum+k)*itot,SEEK_SET);
            fwrite(buff+k*jeff*itot+j*itot, 1, itot, write_file);
20     }
}
free(buff);
}

```

25 Les paramètres à passer lors de l'appel de la procédure sont:

read_file: pointeur sur le fichier *fich_centre*

write_file: pointeur sur le fichier *fich_echl*

ktot: nombre total d'images *nbim*

jtot: nombre total de lignes dans une représentation fréquentielle: *fdim*

30 itot: taille en octets d'une ligne: $fdim * \text{sizeof}(\text{complexe}) + 2 * \text{sizeof}(\text{int})$, ou $\text{sizeof}(\text{complexe})$ désigne la
taille en octets d'un nombre complexe ($T_k[i,j]$ par exemple) et $\text{sizeof}(\text{int})$ la taille en octets d'un
nombre entier ($imax_k$ par exemple).

memory_limit: taille maximale en octets de la mémoire à accès aléatoire (RAM) dont dispose la
procédure pour stocker les blocs.

35 Les fichiers doivent être ouverts en mode 'committed' c'est-à-dire que les opérations de
lecture/écriture sont effectuées directement depuis ou vers le disque dur, sans bufferisation intermédiaire
en mémoire centrale.

(1402)- phase de calcul.

Cette phase de calcul a pour objet de remplacer l'indice 'image' k par l'indice nk donné par la formule:

$$40 \quad nk = \frac{fdim}{2} + \sqrt{K^2 - (i - C_x)^2 - (j - C_y)^2} - \sqrt{K^2 - (imax_k - C_x)^2 - (jmax_k - C_y)^2}$$

ou i,j sont les coordonnées dans le repère d'origine (avant centrage). Dans le repère centré on a donc:

$$nk = \sqrt{K^2 - (ni - fdim/2 + imax_k - C_x)^2 - (nj - fdim/2 + jmax_k - C_y)^2}$$

$$-\sqrt{K^2 - (imax_k - C_x)^2 - (jmax_k - C_y)^2} + \frac{fdim}{2}$$

Lorsque les mêmes indices (i,j,k) sont obtenus plusieurs fois par remplacement de l'indice image, la valeur retenue pour l'élément correspondant de la représentation fréquentielle tridimensionnelle est la moyenne des valeurs pour lesquelles les indices (i,j,k) sont obtenus.

- 5 Un point de la représentation fréquentielle tridimensionnelle, de coordonnées (ni,nj,nk) , ne peut être obtenu par ce changement de coordonnées qu'à partir d'un plan (ni,k) donné et correspondant à son indice nj . Les plans (ni,k) peuvent donc être traités indépendamment les uns des autres. Lorsque dans un plan (ni,k) on a remplacé l'indice k par l'indice nk , il est donc possible d'effectuer directement la transformée de Fourier bidimensionnelle inverse de ce plan avant de passer au plan suivant. C'est ce que fait cette partie du programme, dont l'algorithme est détaillé sur la Fig. 23. Ses étapes principales sont:

(1800) les éléments suivants sont lus dans le fichier *fich_echl* et transférés en mémoire interne:

$$\begin{aligned} &imax_0, jmax_0, T_0[0,nj], T_0[1,nj], \dots, T_0[fdim-1,nj], \\ 15 \quad &imax_1, jmax_1, T_1[0,nj], T_1[1,nj], \dots, T_1[fdim-1,nj], \\ &\dots \\ &imax_{nbim-1}, jmax_{nbim-1}, T_{nbim-1}[0,nj], T_{nbim-1}[1,nj], \dots, T_{nbim-1}[fdim-1,nj] \end{aligned}$$

(1801) les tableaux D_{nj} et $Poids$, de dimensions $fdim \times fdim$, sont initialisés à 0.

(1802) La condition suivante est testée:

$$20 \quad (ni - fdim/2 + imax_k - C_x)^2 + (nj - fdim/2 + jmax_k - C_y)^2 < \left(K \frac{o}{n}\right)^2$$

ou o est l'ouverture du microscope, légèrement surévaluée par précaution, et n l'indice de l'huile optique et de la lamelle utilisés, soit à peu près: $\frac{o}{n} = \frac{1,25}{1,51}$. Si la condition est vraie, le point correspond à un vecteur fréquence ne sortant pas de l'ouverture de l'objectif et est donc dans la zone observable.

- 25 (1803) La valeur nk est calculée par la formule:

$$\begin{aligned} nk = & \sqrt{K^2 - (ni - fdim/2 + imax_k - C_x)^2 - (nj - fdim/2 + jmax_k - C_y)^2} \\ & - \sqrt{K^2 - (imax_k - C_x)^2 - (jmax_k - C_y)^2} + fdim/2 \end{aligned}$$

(1804) La valeur correspondante de fréquence est additionnée au tableau D_{nj} . L'élément correspondant du tableaux des poids, qui sera utilisé pour calculer la valeur moyenne, est incrémenté.

$$30 \quad D_{nj}[ni, nk] += T_k[ni, nj]$$

$Poids\{ni, nk\} = 1$

(1805) Lorsque l'ensemble des indices ni, nk a ainsi été parcouru, le programme parcourt l'ensemble des indices ni et nk en testant la condition $Poids\{ni, nk\} \neq 0$ et à chaque fois que cette condition est réalisée il effectue:

$$5 \quad D_{nj}\{ni, nk\} = \frac{D_{nj}\{ni, nk\}}{Poids\{ni, nk\}}$$

(1806) le programme effectue une transformée de Fourier bidimensionnelle inverse du tableau

D_{nj} .

(1807) il stocke le tableau transformé dans le fichier de sortie *fich_calc* dans l'ordre suivant:

$D_{nj}[0,0], D_{nj}[1,0], \dots, D_{nj}[fdim-1,0],$

(10 $D_{nj}[0,1], D_{nj}[1,1], \dots, D_{nj}[fdim-1,1],$

.....

$D_{nj}[0, fdim-1], D_{nj}[1, fdim-1], \dots, D_{nj}[fdim-1, fdim-1]$

(1403)-2eme échange des axes:

Il reste à ce niveau à effectuer une transformée de Fourier inverse à une dimension suivant l'axe nj .

15 Afin de pouvoir effectuer cette transformation en un temps raisonnable, il est nécessaire d'échanger préalablement les axes nj et nk . Le programme pourra ensuite charger en mémoire centrale des plans (ni, nj) complets pour les traiter.

Dans le fichier *fich_calc* les données sont rangées dans l'ordre suivant:

$D_0[0,0], D_0[1,0], \dots, D_0[fdim-1,0],$

20 $D_0[0,1], D_0[1,1], \dots, D_0[fdim-1,1],$

.....

$D_0[0, fdim-1], D_0[1, fdim-1], \dots, D_0[fdim-1, fdim-1],$

$D_1[0,0], D_1[1,0], \dots, D_1[fdim-1,0],$

$D_1[0,1], D_1[1,1], \dots, D_1[fdim-1,1],$

25

$D_1[0, fdim-1], D_1[1, fdim-1], \dots, D_1[fdim-1, fdim-1],$

.....

.....

$D_{fdim-1}[0,0], D_{fdim-1}[1,0], \dots, D_{fdim-1}[fdim-1,0],$

30 $D_{fdim-1}[0,1], D_{fdim-1}[1,1], \dots, D_{fdim-1}[fdim-1,1],$

.....

$D_{fdim-1}[0, fdim-1], D_{fdim-1}[1, fdim-1], \dots, D_{fdim-1}[fdim-1, fdim-1]$

Ce fichier est relu, et un fichier *fich ech2* est généré, dans lequel les données sont réécrites dans l'ordre suivant:

```

D0[0,0], D0[1,0], ..... D0[fdim-1,0],
D1[0,0], D1[1,0], ..... D1[fdim-1,0],
5 .....
Dfdim-1[0,0], Dfdim-1[1,0], ..... Dfdim-1[fdim-1,0],
D0[0,1], D0[1,1], ..... D0[fdim-1,1],
D1[0,1], D1[1,1], ..... D1[fdim-1,1],
.....
10 Dfdim-1[0,1], Dfdim-1[1,1], ..... Dfdim-1[fdim-1,1],
.....
.....
D0[0, fdim-1], D0[1, fdim-1], ..... D0[fdim-1, fdim-1],
D1[0, fdim-1], D1[1, fdim-1], ..... D1[fdim-1, fdim-1],
15 .....
Dfdim-1[0, fdim-1], Dfdim-1[1, fdim-1], ..... Dfdim-1[fdim-1, fdim-1]
```

Cet échange des axes *nj* et *nk* est effectué par blocs comme le précédent échange d'axes. La même procédure est utilisée, les paramètres à passer étant:

```

read_file: pointeur sur le fichier fich_calc
20 write_file: pointeur sur le fichier fich_ech2
ktot: fdim
jtot: fdim
itot: taille en octets d'une ligne: fdim*sizeof(complexe) ou sizeof(complexe) désigne la taille en octets
d'un nombre complexe.
25 memory_limit: comme précédemment, la taille en octets de la mémoire disponible.
```

(1404)-Dernière transformation de Fourier

Cette procédure consiste à effectuer la transformation de Fourier inverse suivant l'axe *nj*. Il s'agit d'un traitement itératif sur l'indice *nk*. L'algorithme de cette partie de programme se trouve Fig.24. Ses étapes essentielles sont les suivantes:

```

30 (1900): le programme charge en mémoire interne les valeurs:
D0[0,nk], D0[1,nk], ..... D0[fdim-1,nk],
D1[0,nk], D1[1,nk], ..... D1[fdim-1,nk],
.....
```


$$D_{fdim-1}[0, nk], D_{fdim-1}[1, nk], \dots, D_{fdim-1}[fdim-1, nk]$$

(1901): Le programme génère le tableau $E_{nk, ni}$ à une dimension:

$$E_{nk, ni}[nj] = D_{nj}[ni, nk]$$

Il effectue la transformée de Fourier inverse de ce tableau, générant le tableau $\tilde{E}_{nk, ni}$

5 (1902): il enregistre les résultats dans le fichier `fich_rep`, dans l'ordre suivant:

$$\tilde{E}_{nk, 0}[0], \tilde{E}_{nk, 1}[0], \dots, \tilde{E}_{nk, fdim-1}[0],$$

$$\tilde{E}_{nk, 0}[1], \tilde{E}_{nk, 1}[1], \dots, \tilde{E}_{nk, fdim-1}[1],$$

.....

$$\tilde{E}_{nk, 0}[fdim-1], \tilde{E}_{nk, 1}[fdim-1], \dots, \tilde{E}_{nk, fdim-1}[fdim-1]$$

10 Le fichier ainsi généré contient alors la représentation tridimensionnelle de l'objet au format $U[ni, nj, nk]$ ou l'élément complexe $U[ni, nj, nk]$ est rangé dans le fichier `fich_rep` à l'adresse $(nk * fdim * fdim + nj * fdim + ni)$ comptée à partir du début du fichier, l'adressage se faisant par éléments de type 'nombre complexe'.

15 visualisation

Le tableau U ayant été généré, on peut en visualiser le contenu. La visualisation la plus simple consiste à en extraire une coupe, un des indices étant fixé à une valeur constante. Sur cette coupe, on peut visualiser la partie réelle, la partie imaginaire ou le module. Un autre mode de visualisation consiste à en extraire des projections. Par exemple pour une projection de la partie réelle selon l'axe nk ,

20 on représentera le tableau V avec

$$V[ni, nj] = \sum_k [\operatorname{Re}(U[ni, nj, nk])]^2, \text{ ou } \operatorname{Re}(x) \text{ désigne la partie réelle de } x, \text{ la somme sur } nk \text{ étant prise}$$

entre deux plans 'limite' selon ce que l'on veut représenter.

Variantes:

25 D'autres modes de réalisation sont bien entendu possibles et la description ci-dessus n'est pas limitative. Entre autres possibilités on peut utiliser des longueurs d'onde plus courtes, des capteurs plus rapides ou ayant un nombre de pixels différent, on peut générer une représentation tridimensionnelle de taille différente, on peut utiliser un autre dispositif d'atténuation contrôlée, on peut utiliser moins de positionneurs et compter sur une réalisation plus soignée, on peut modifier le système optique en

30 adoptant une configuration physique différente, par exemple en supprimant certains voire tous les éléments optiques présents entre l'objet et le capteur, ou encore en utilisant des ondes d'éclairage non planes.

Possibilités d'application industrielle:

Ce microscope peut être utilisé au lieu de microscopes à transmission usuels, dans le domaine de la biologie ou de la métrologie. Il a une meilleure résolution que les systèmes connus et permet une visualisation de l'indice local dans l'échantillon.

5

REVENDEICATIONS (1/2)

- 1-Microscope calculant numériquement une représentation tridimensionnelle d'un objet observé à partir de plusieurs enregistrements de l'onde issu dudit objet et reçue sur une surface de réception, différant entre eux par l'onde éclairant ledit objet, caractérisé par le fait qu'il comporte des moyens pour
- 5 déterminer une représentation de chaque onde d'éclairage dans l'objet.
- 2-Microscope selon la revendication 1, caractérisé par le fait que ledit calcul numérique de ladite représentation tridimensionnelle comporte une étape de calcul d'une représentation normalisée de chaque onde issue de l'objet par rapport à l'onde d'éclairage correspondante.
- 10 3-Microscope selon la revendication 2, caractérisé par le fait que ledit calcul numérique de ladite représentation tridimensionnelle comporte une étape de moyennage desdites représentations normalisées.
- 15 4-Microscope selon une des revendications 1 à 3, caractérisé par le fait que lesdites ondes d'éclairage sont des ondes planes différant entre elles par leur direction.
- 5-Microscope selon les revendications 2 et 4 caractérisé par le fait que chacune desdites représentations normalisées est obtenue dans le domaine fréquentiel en divisant l'ensemble de la représentation
- 20 complexe de l'onde issue de l'objet par la valeur de l'onde d'éclairage sur sa fréquence unique, puis en translatant l'ensemble de ladite représentation de manière à ramener au zéro la fréquence unique de l'onde d'éclairage.
- 6-Microscope selon les revendications 4 et 5, caractérisé par le fait que ladite représentation
- 25 tridimensionnelle de l'onde issue de l'objet est obtenue par moyennage desdites représentations normalisées.
- 7-Microscope selon la revendication 6, caractérisé par le fait que ledit moyennage est effectué dans le domaine fréquentiel et est limité en chaque point aux représentations fréquentielles normalisées ayant
- 30 une valeur non nulle au point considéré.
- 8-Microscope selon une des revendications 4 à 7, caractérisé par le fait que l'extrémité du vecteur fréquence de ladite onde d'éclairage parcourt un cercle.
- 35 9-Microscope selon une des revendications 4 à 8, caractérisé par le fait que les variations de direction de ladite onde d'éclairage sont obtenues par réflexion sur un miroir mobile renvoyant le faisceau d'éclairage vers un condenseur qui le redirige vers la zone observée de l'objet, un système optique permettant de focaliser ladite onde d'éclairage sur la surface focale objet dudit condenseur.
- 40 10-Microscope selon une des revendications 4 à 9, caractérisé par le fait qu'il comporte un diaphragme permettant de limiter la largeur du faisceau d'éclairage.
- 11-Microscope selon une des revendications 1 à 10, caractérisé par le fait qu'un dispositif d'atténuation contrôlée introduit sur le trajet du faisceau d'éclairage permet de faire varier l'intensité du faisceau
- 45 d'éclairage et par le fait que chacune desdites représentations normalisées d'ondes issues de l'objet est obtenue à partir de plusieurs enregistrements de l'onde issue de l'objet différant entre eux par l'intensité de l'onde d'éclairage.
- 12-Microscope selon une des revendications 1 à 11, caractérisé par le fait que les données
- 50 tridimensionnelles sont stockées sur un support à accès séquentiel pendant le traitement et que le calcul de la représentation tridimensionnelle est effectué plan horizontal par plan horizontal et comporte des phases d'échange d'axes ramenant provisoirement l'axe vertical dans un plan horizontal.

REVENDICATIONS (2/2)

13- Représentation tridimensionnelle, image bidimensionnelle ou image stéréoscopique d'un objet observé, caractérisée en ce qu'elle est obtenue à l'aide d'un microscope selon une des revendications 1 à 12.

5

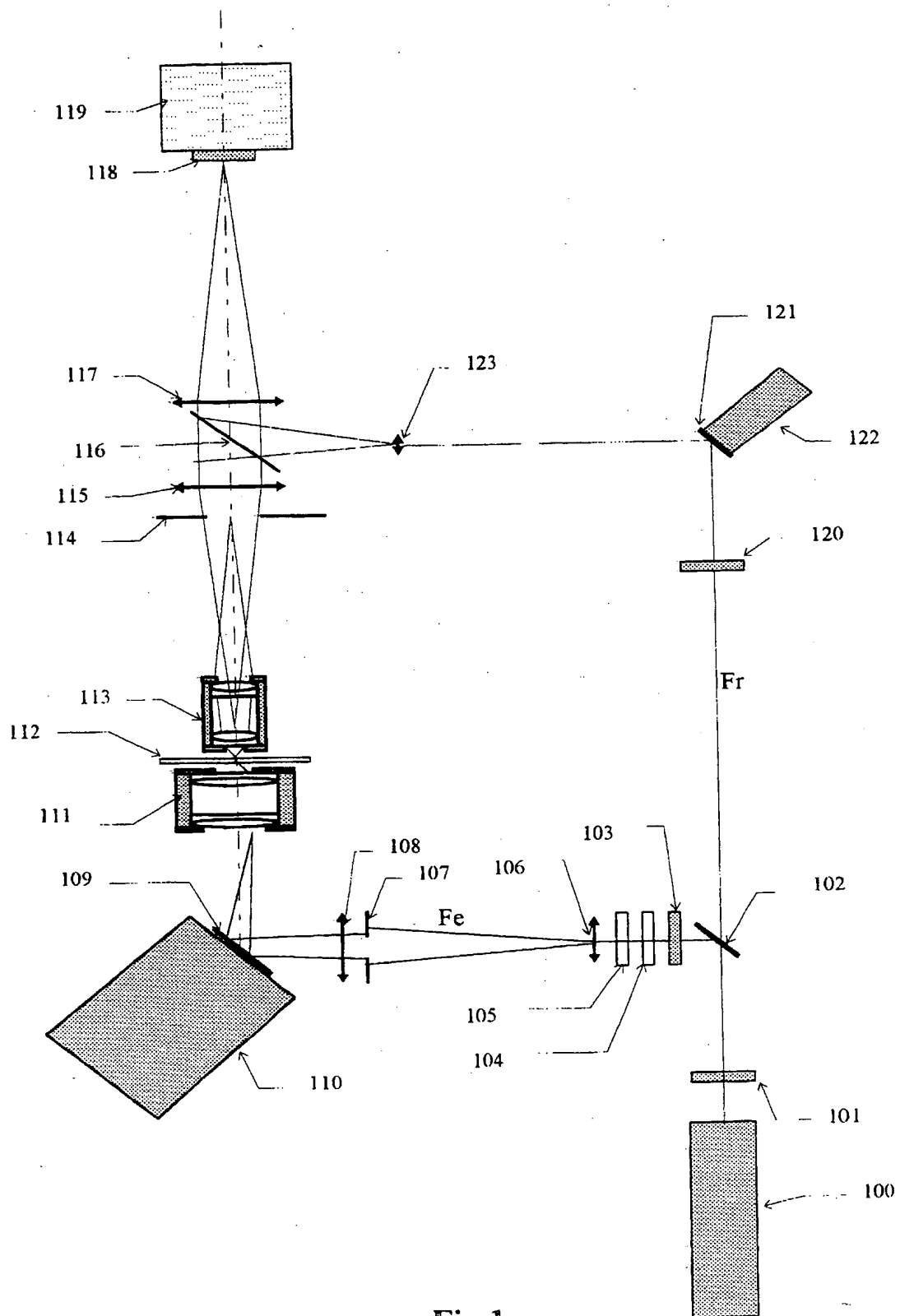
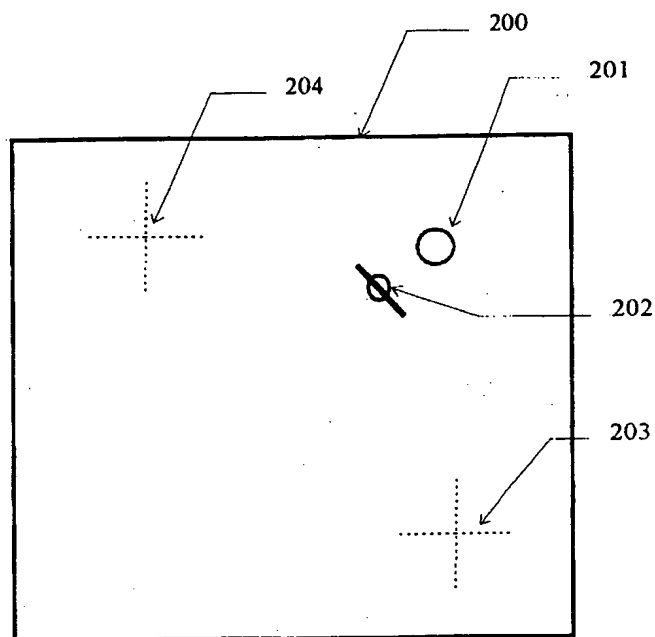
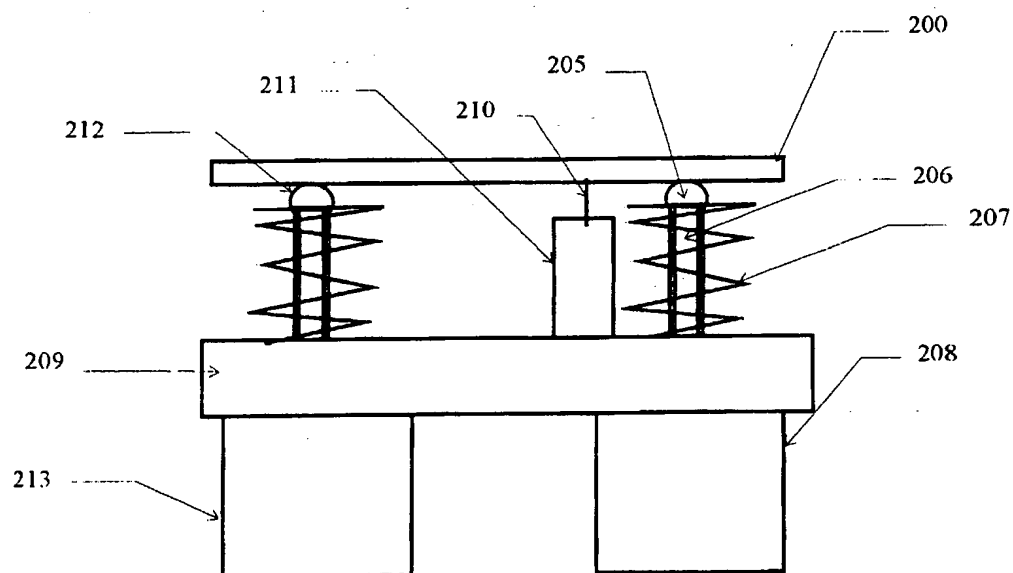
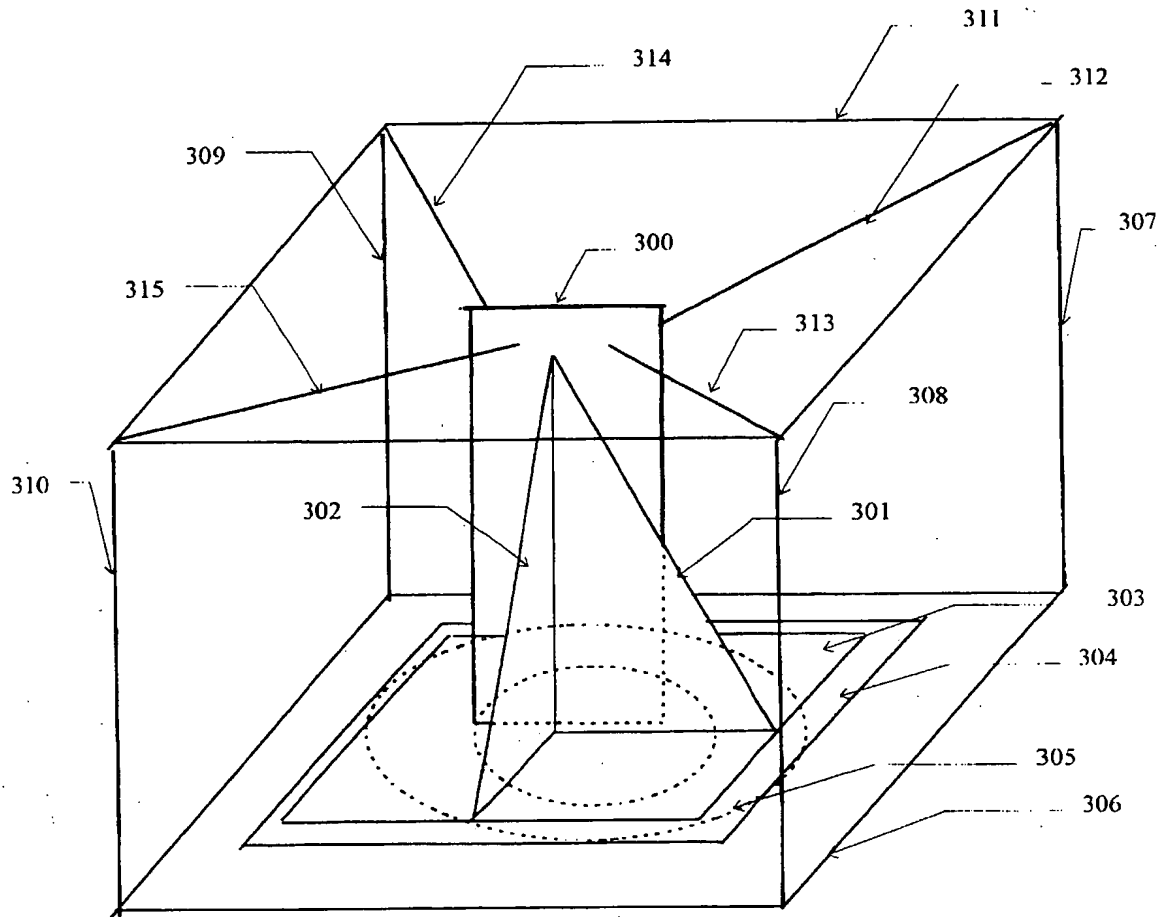
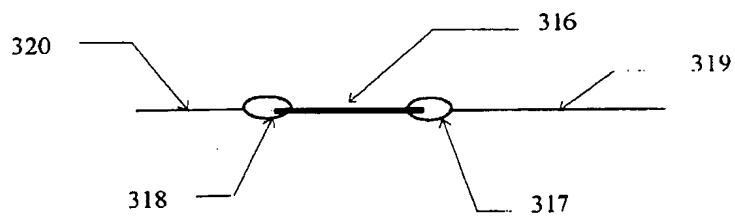
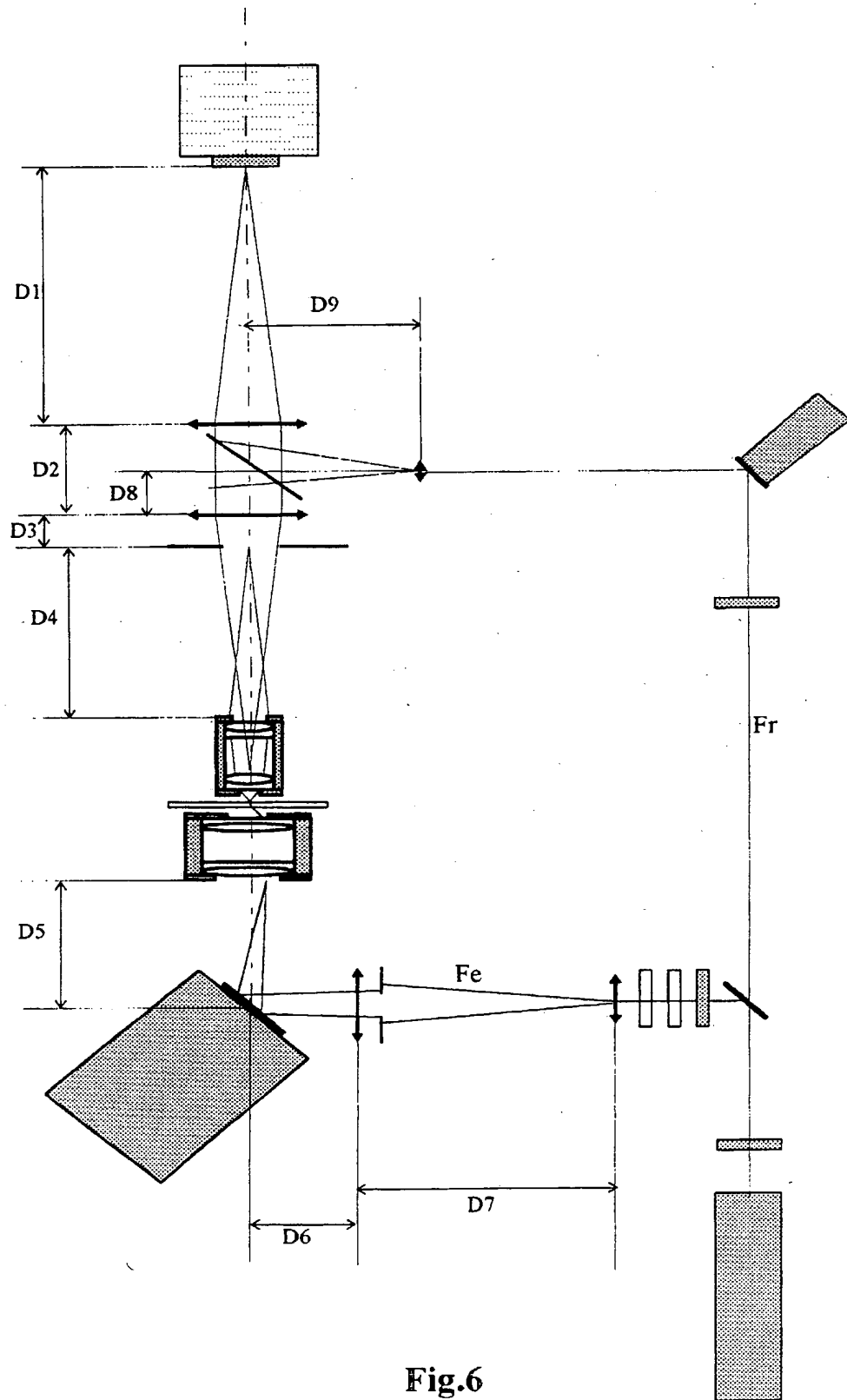


Fig.1

**Fig.2****Fig.3**

**Fig.4****Fig.5**



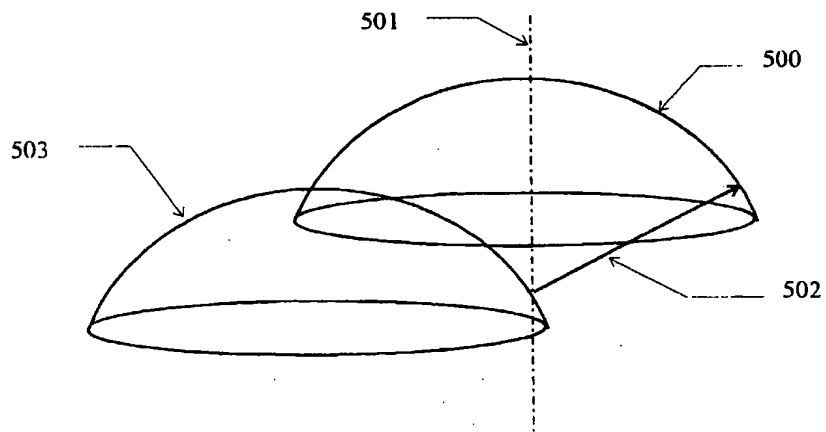


Fig. 7

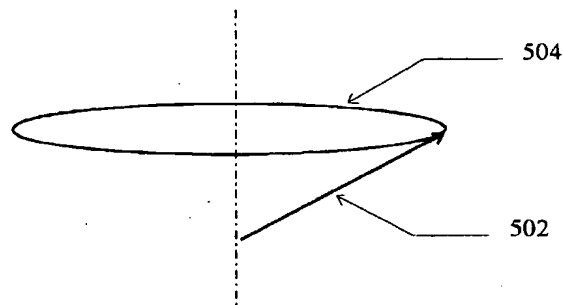


Fig. 8

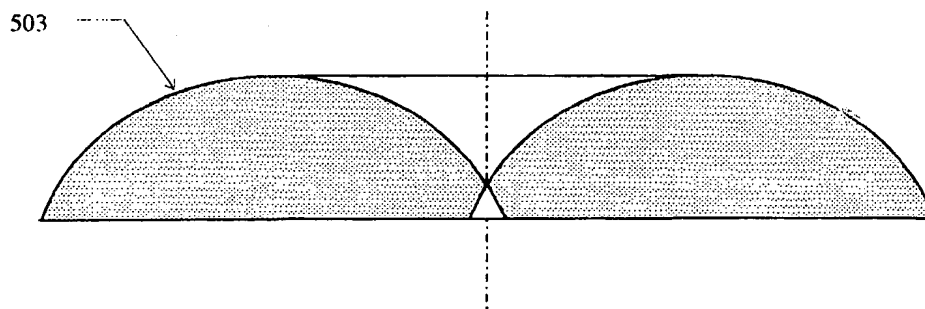


Fig. 9

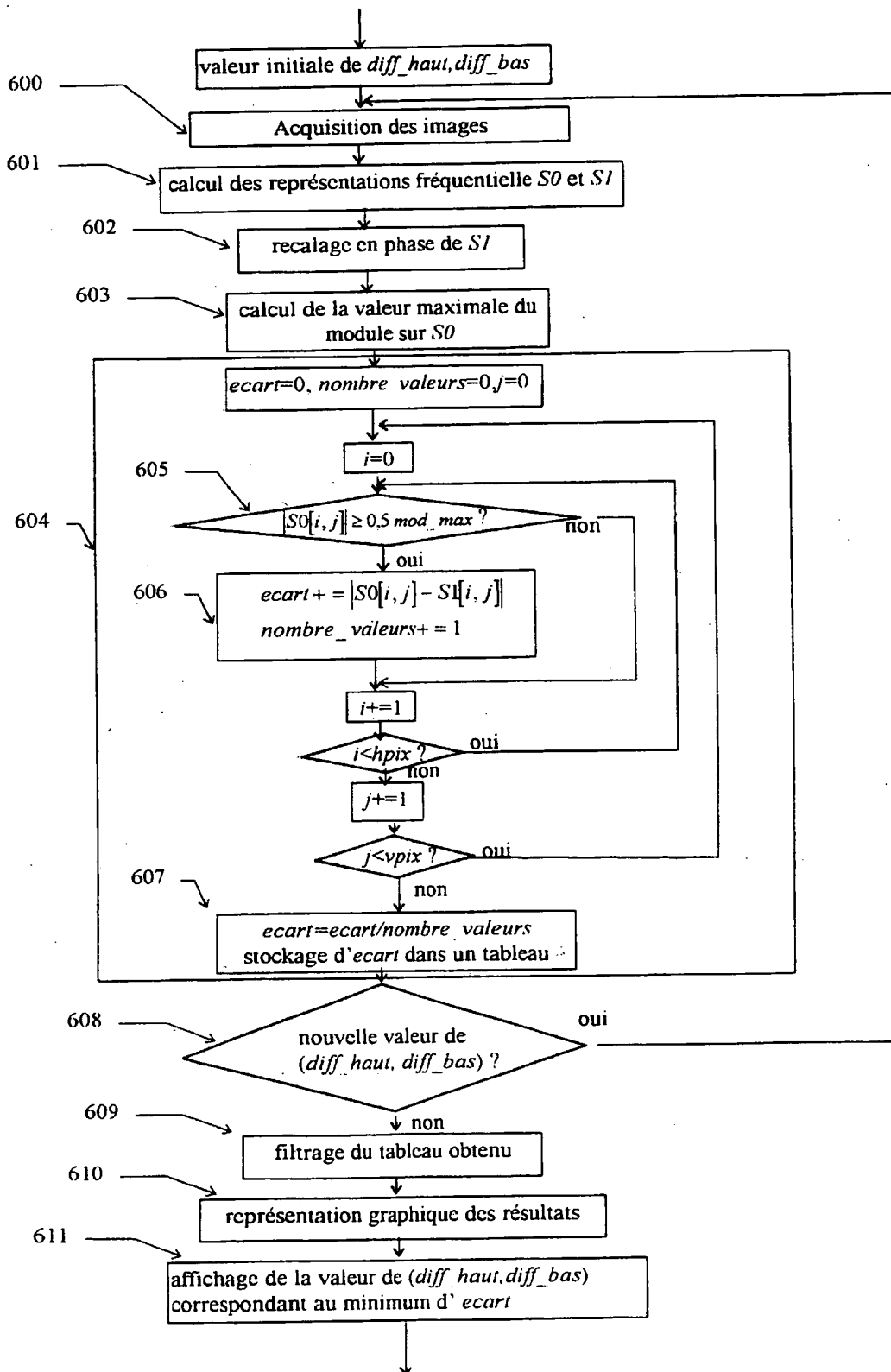


Fig.10

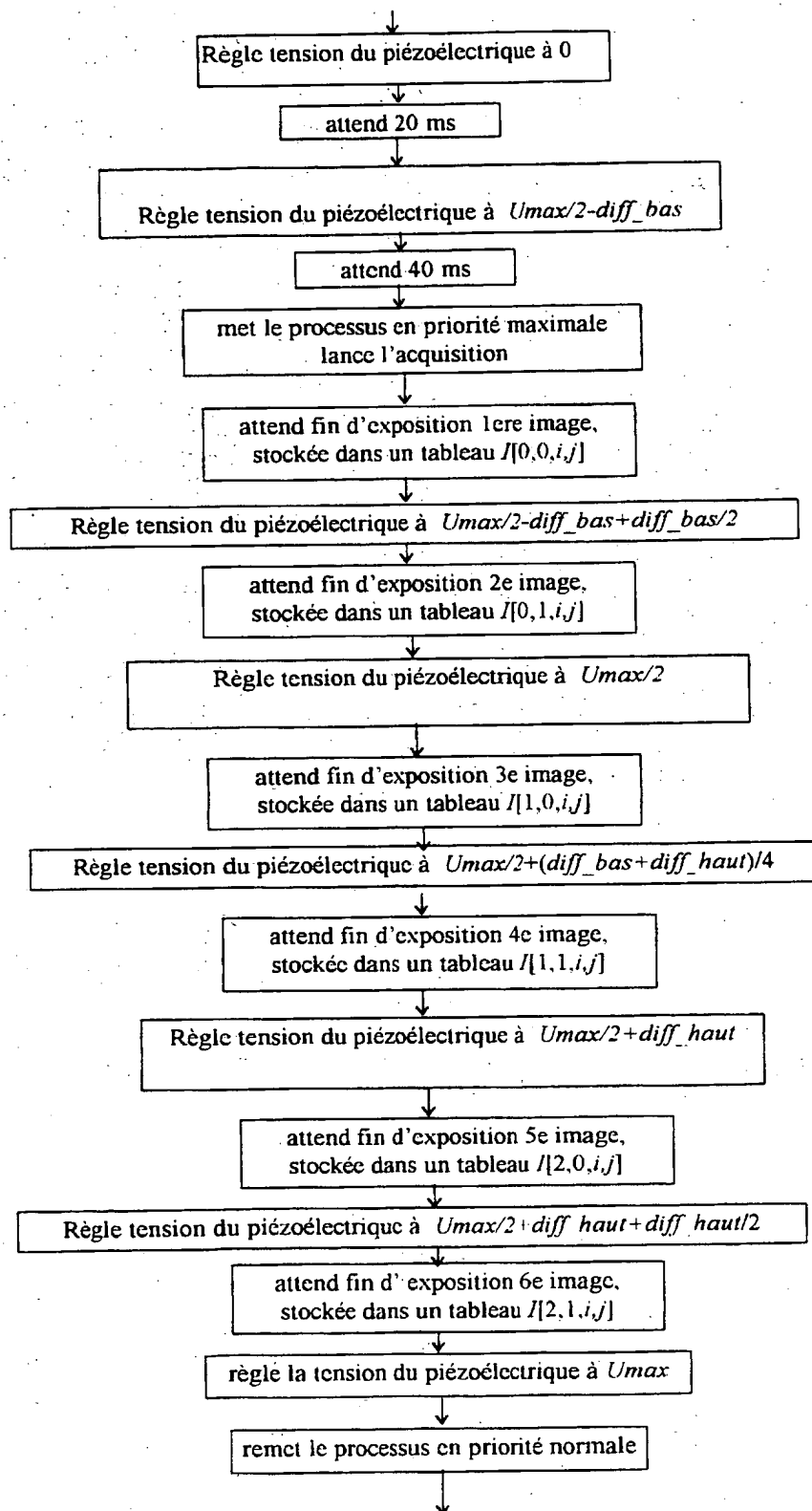


Fig. 11

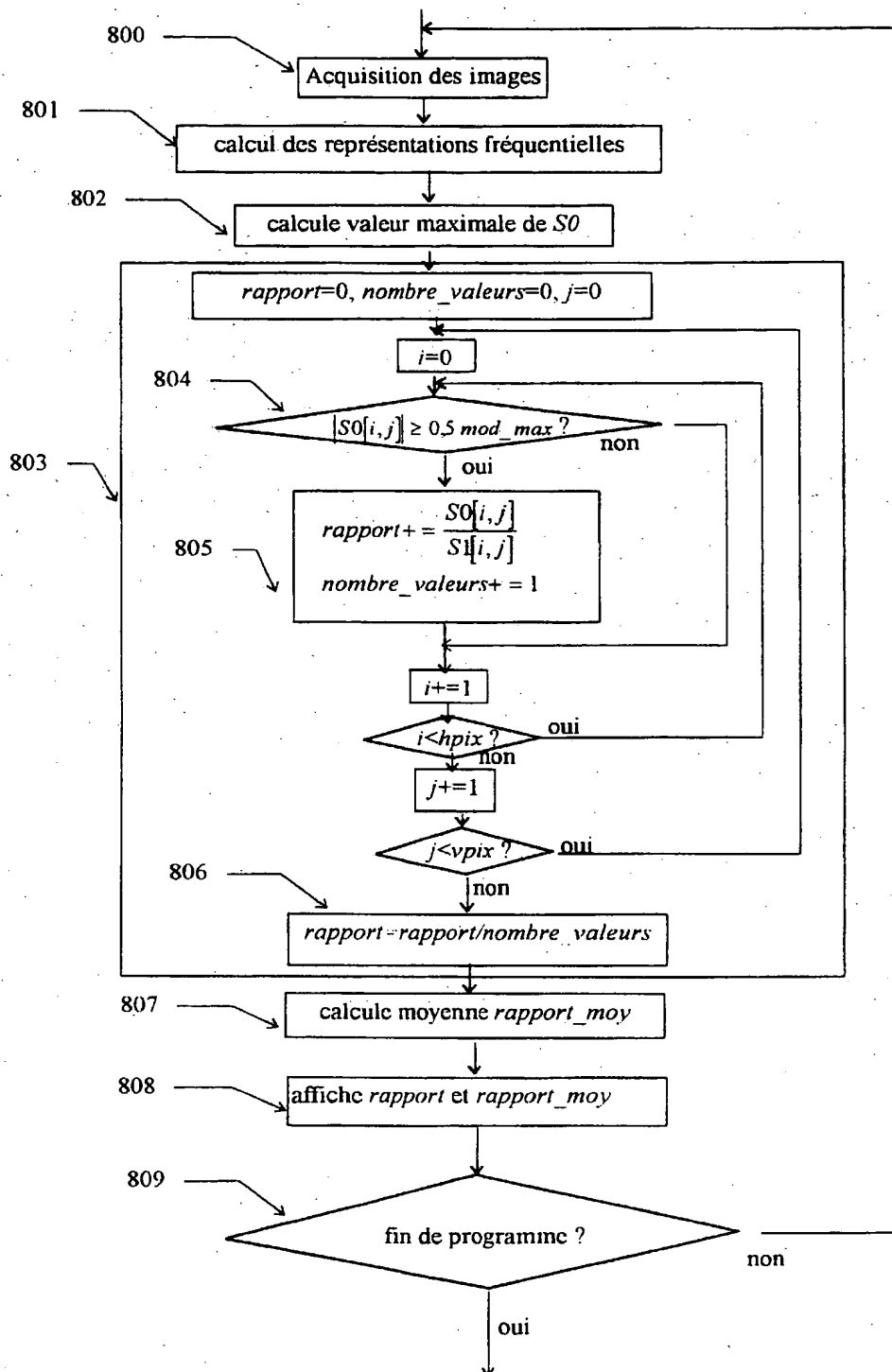


Fig.12

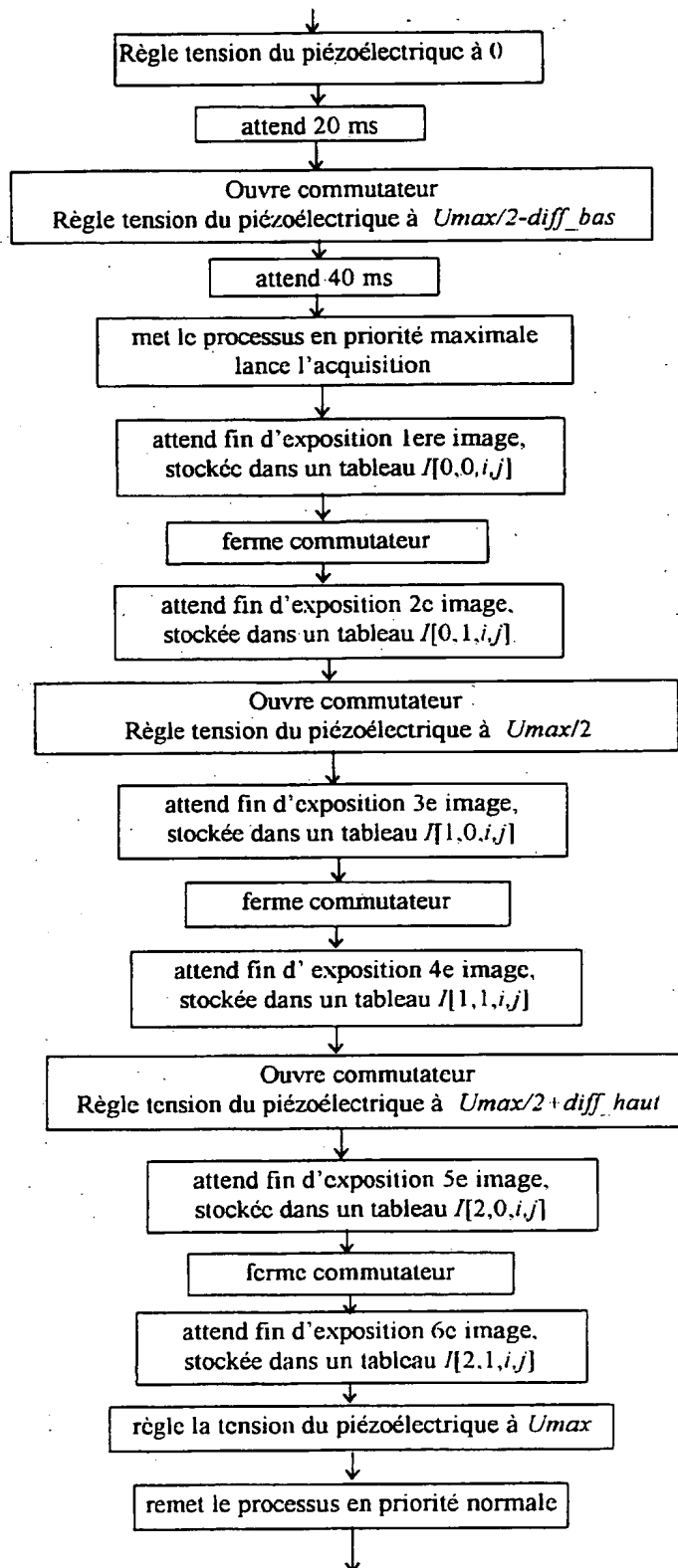


Fig.13

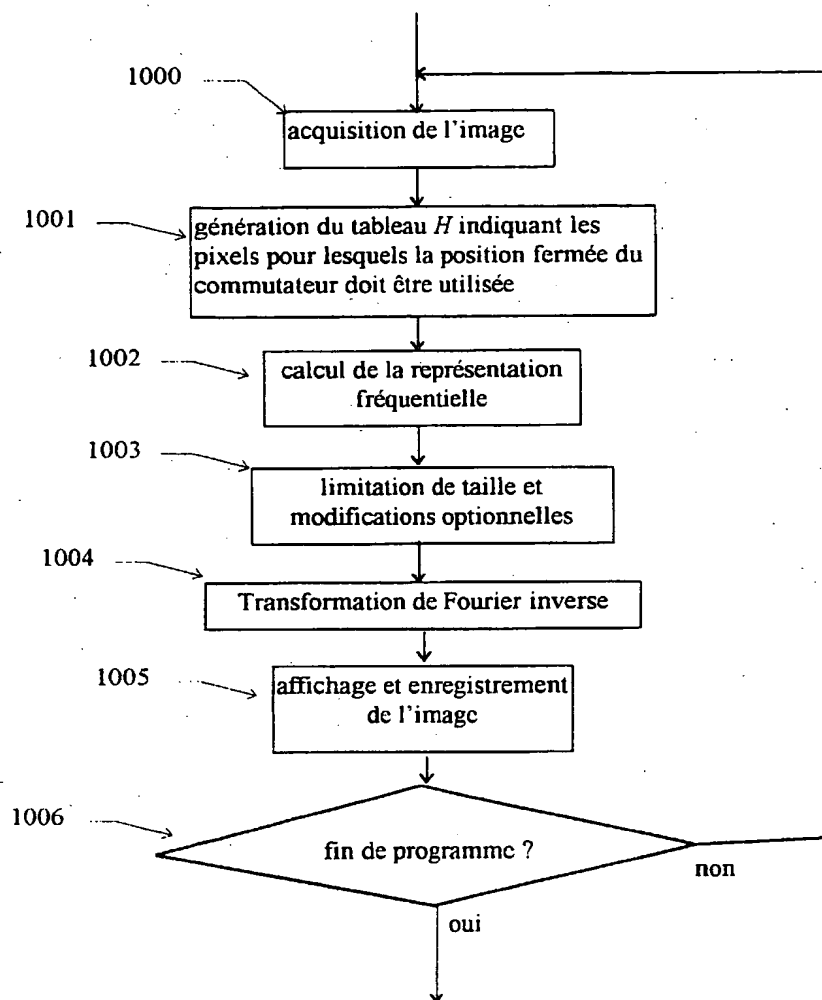


Fig. 14

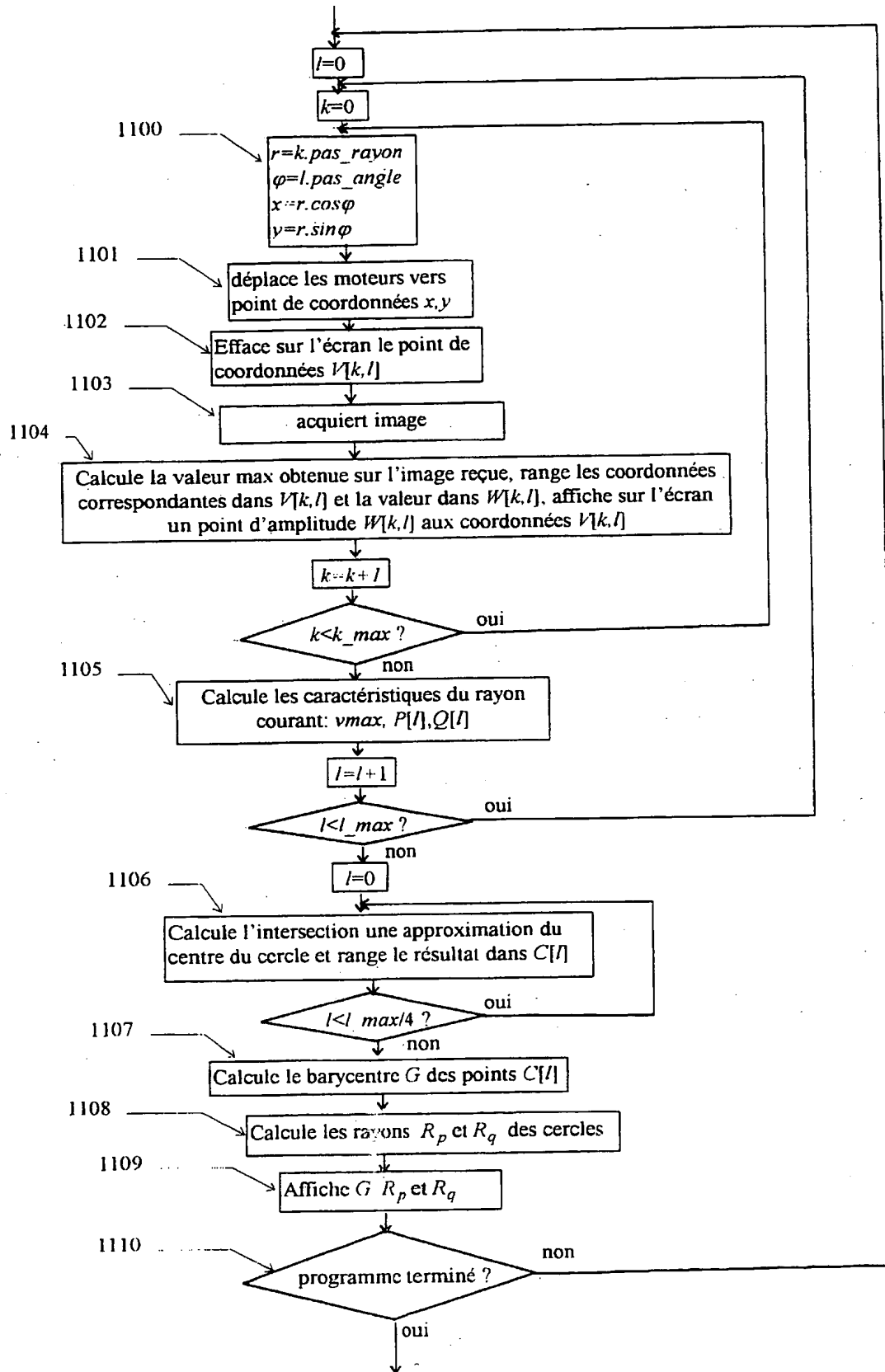


Fig. 15

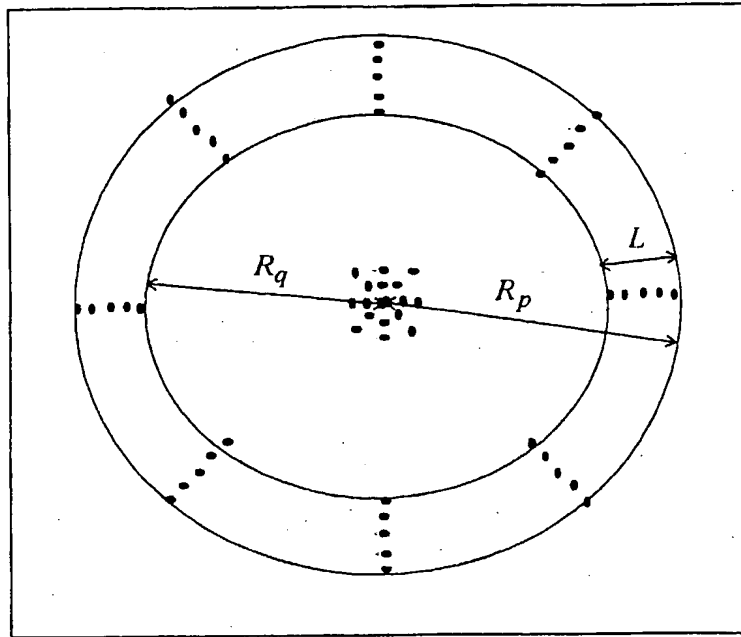


Fig.16

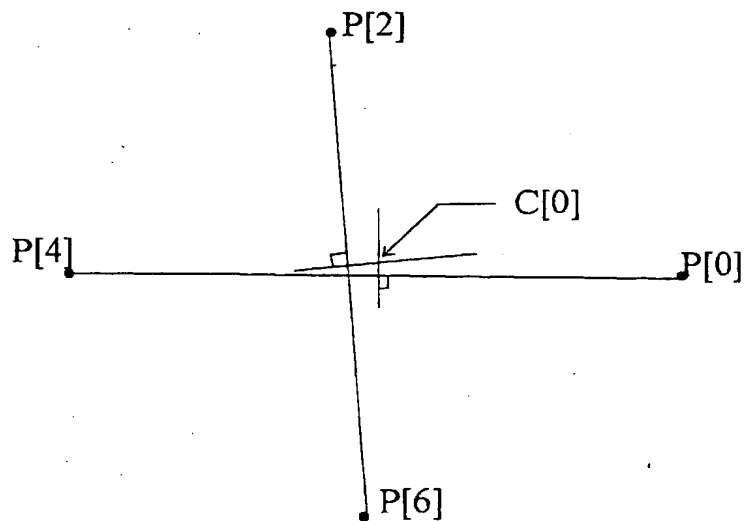


Fig.17

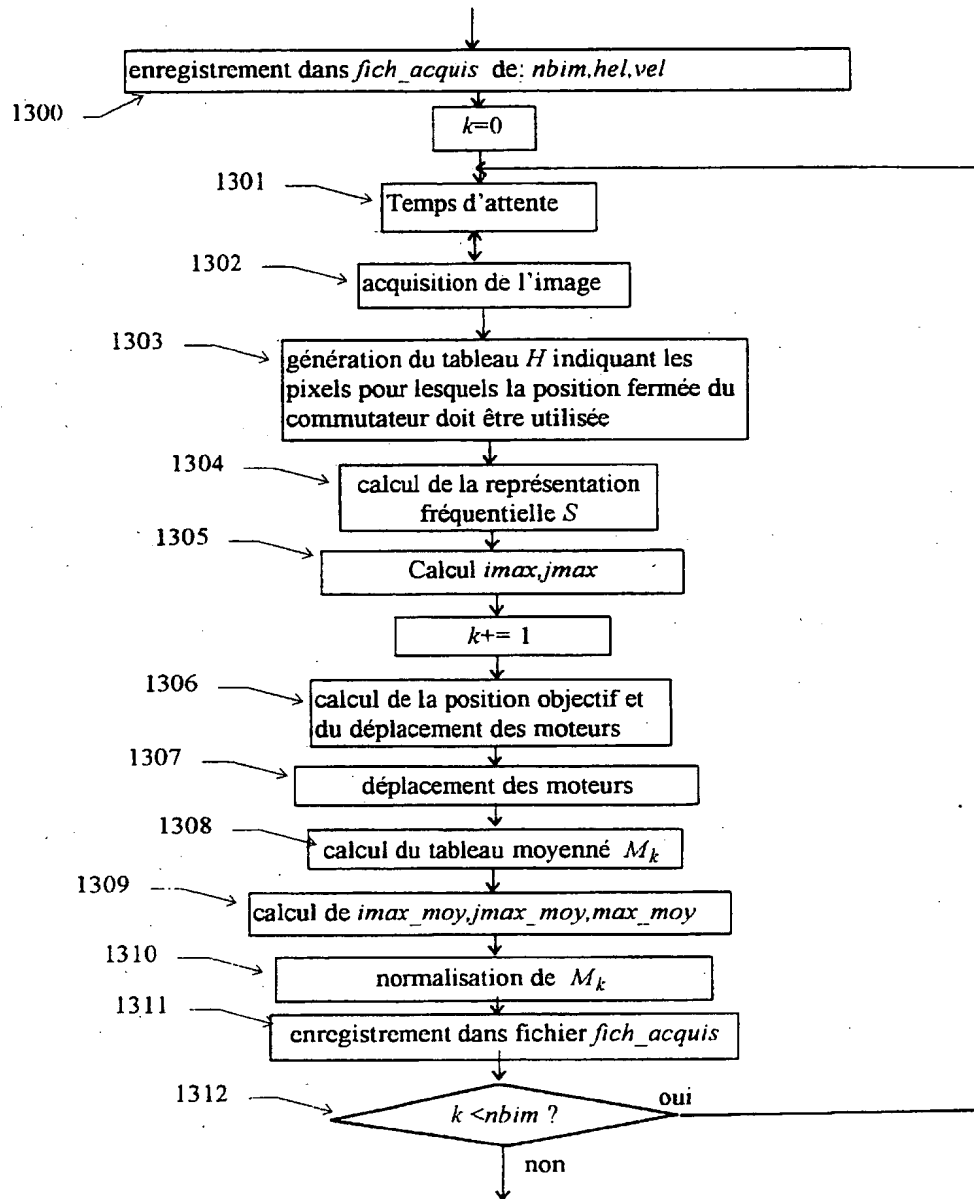


Fig. 18

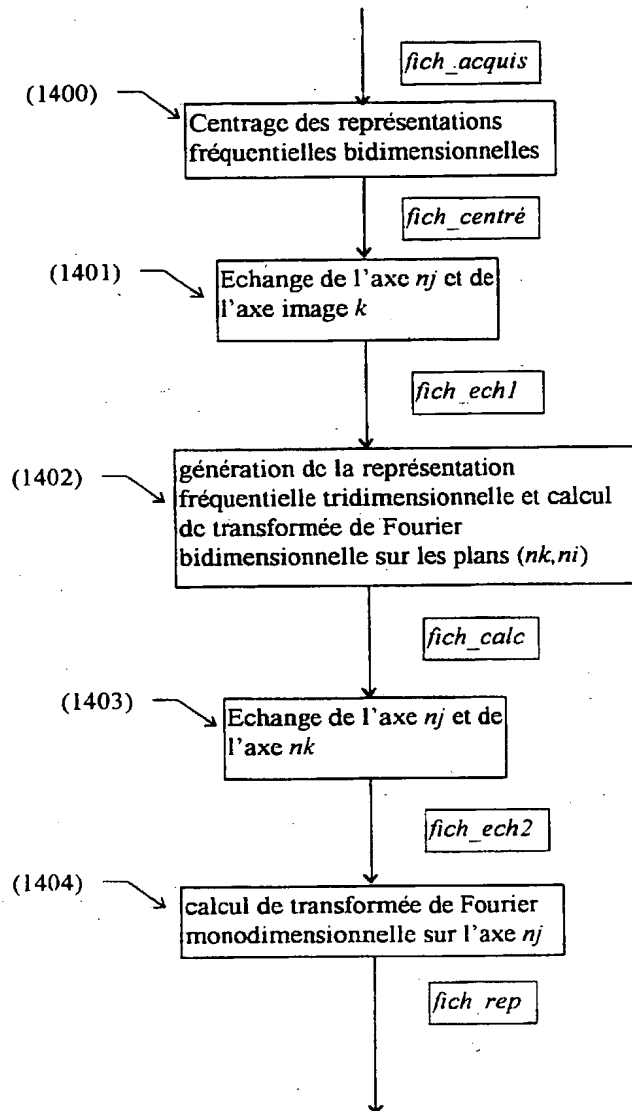


Fig.19

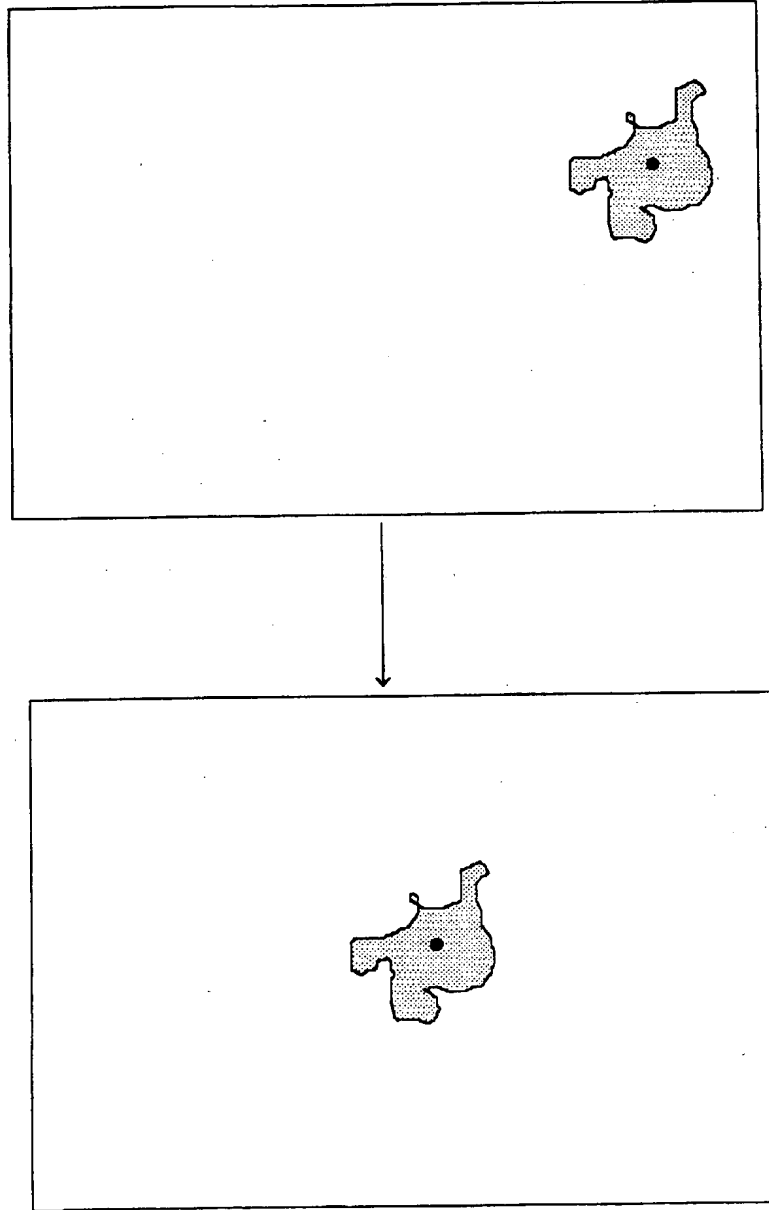


Fig.20

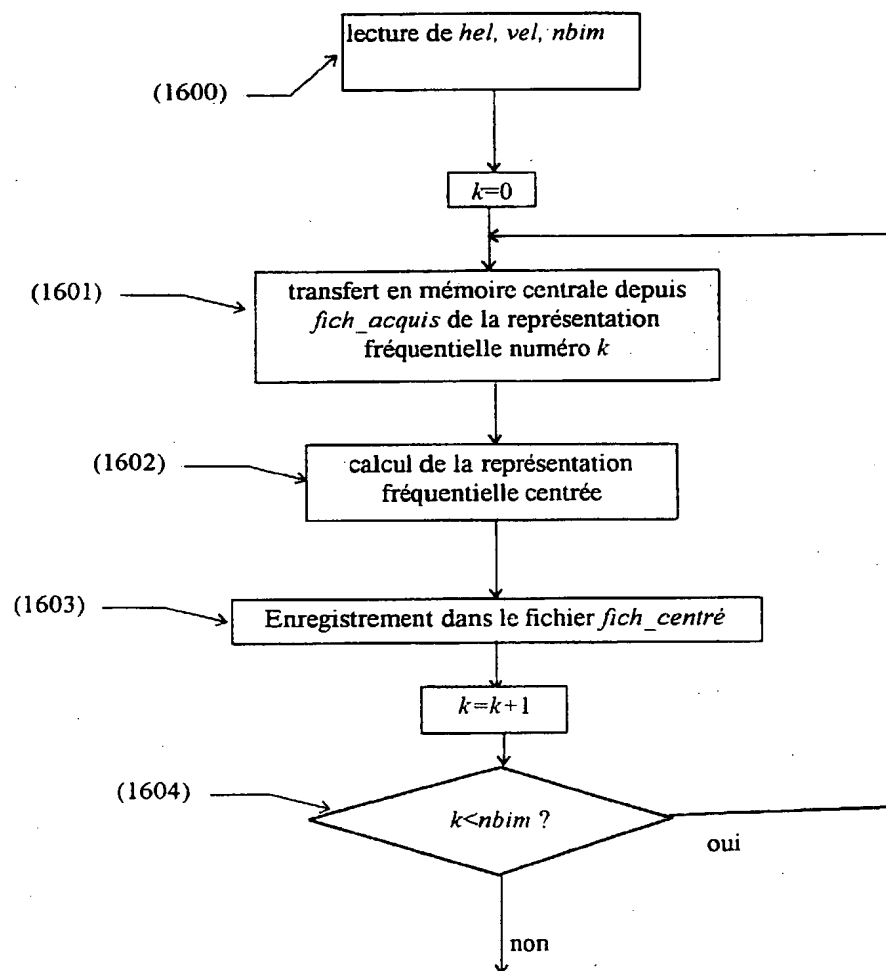
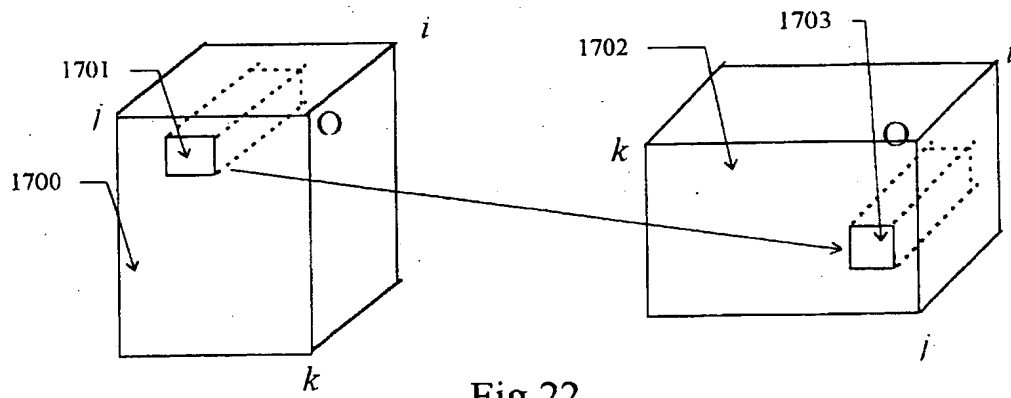


Fig.21



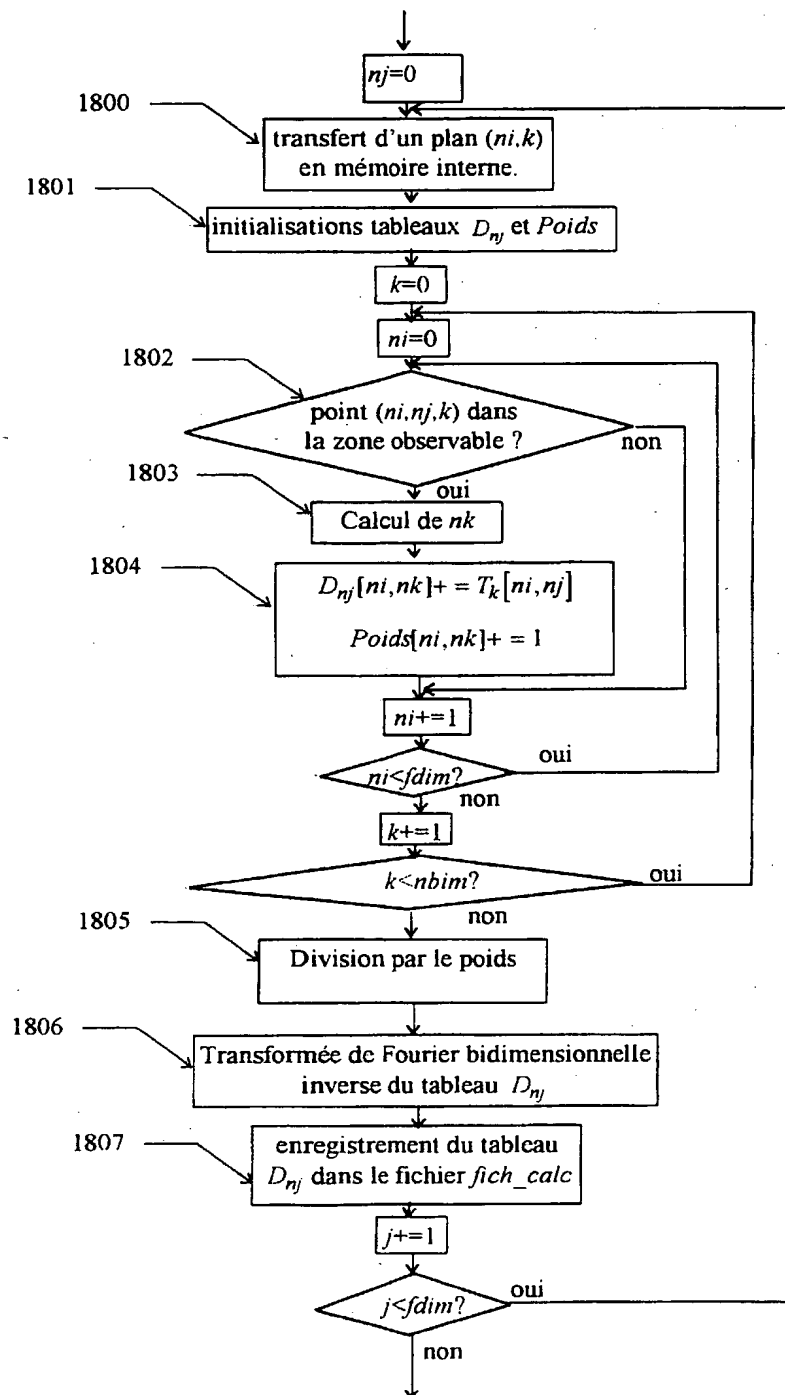


Fig.23

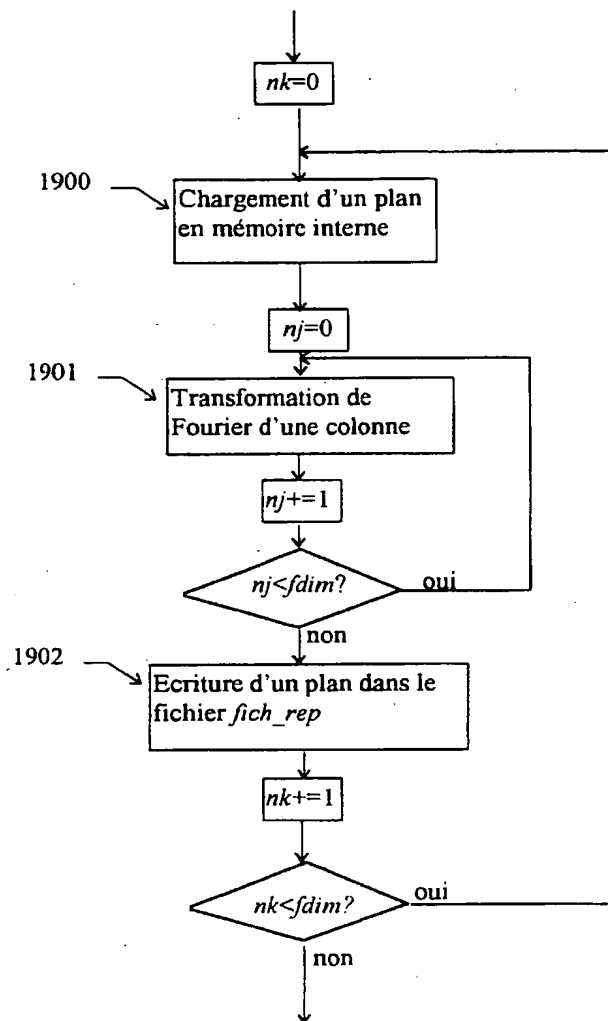


Fig.24